

FELIPE PAOLINELLI DE CARVALHO

IMPLICAÇÕES DO USO DE HERBICIDAS EM PLANTAS DE
CAFEIRO MICORRIZADAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C331i
2014
Carvalho, Felipe Paolinelli de, 1986-
Implicações do uso de herbicidas em plantas de cafeeiro
micorrizadas / Felipe Paolinelli de Carvalho. – Viçosa, MG,
2014.
vii, 53f : il. ; 29 cm.

Orientador: Francisco Affonso Ferreira.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Cafeeiro. 2. Fungos micorrízicos. 3. Herbicidas.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia.
Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

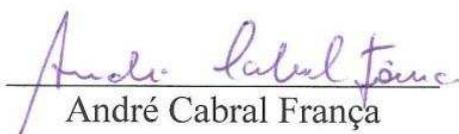
CDD 22. ed. 633.73

FELIPE PAOLINELLI DE CARVALHO

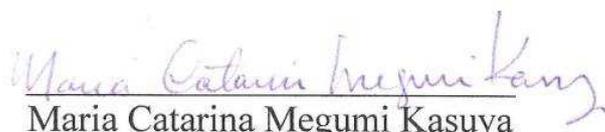
IMPLICAÇÕES DO USO DE HERBICIDAS EM PLANTAS DE
CAFEEIRO MICORRIZADAS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADO: 21 de março de 2014.



André Cabral França
(Coorientador)



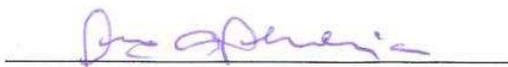
Maria Catarina Megumi Kasuya
(Coorientadora)



Evander Alves Ferreira



Aroldo Ferreira Lopes Machado



Francisco Affonso Ferreira
(Orientador)

Aos meus pais Hales e Rosânia e minha futura esposa Bruna

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus por me conceder o dom da vida, a força e a saúde para poder buscar esta conquista, além de sempre me conduzir pelos caminhos do bem e colocando pessoas maravilhosas no meu caminho.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Fitotecnia e ao Programa de Pós-Graduação pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa e financiamento de projeto.

Ao professor Francisco Affonso Ferreira pela oportunidade, confiança, paciência e ensinamentos.

À professora Maria Catarina Megumi Kasuya pelo aprendizado, ensinamentos e exemplo de dedicação.

Aos professores André Cabral França, Antonio Alberto da Silva e Lino Roberto Ferreira pela amizade, ensinamentos e auxílio na programação dos experimentos.

Ao professor Aroldo Ferreira Lopes Machado pelas valiosas sugestões visando à melhoria do trabalho.

Ao Evander Alves Ferreira pela amizade, ensinamentos e críticas construtivas ao trabalho.

Ao professor Sidney Luiz Stürmer pela produção, disponibilização e envio de materiais essenciais a todo o trabalho de pesquisa.

Ao técnico Luiz Henrique pelos ensinamentos e auxílio na montagem e condução dos experimentos.

Aos amigos, colegas e técnicos dos laboratórios de Nutrição Mineral de Plantas e do BIOAGRO pela ajuda, aprendizado e cooperação durante as análises.

Aos amigos, estagiários e colegas da Equipe Plantas Daninhas e da Micorriza pelo apoio, companhia, momentos de descontração e auxílio na condução dos trabalhos.

Aos meus pais Hales e Rosânia e meus irmãos Rafael e Vinícius pelo incentivo, confiança e amor.

À minha futura esposa Bruna pela companhia, incentivo e sincero amor, além de grande ajuda na condução dos trabalhos.

BIOGRAFIA

FELIPE PAOLINELLI DE CARVALHO, filho de Hales Antônio de Carvalho e Rosânia Paolinelli de Carvalho, nasceu na cidade de Patrocínio, Minas Gerais, em 23 de junho de 1986.

Iniciou o curso de Agronomia na Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, Minas Gerais, Brasil, no mês de agosto de 2005 e colou grau em dezembro de 2009.

Em julho de 2011, tornou-se mestre em Fitotecnia pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Logo após, em agosto de 2011, ingressou no curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em 21 de março de 2014.

SUMÁRIO

| | Pág. |
|--|------|
| RESUMO | v |
| ABSTRACT | vi |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 1 |
| LITERATURA CITADA..... | 3 |
| ARTIGO CIENTÍFICO I. Produção e qualidade de mudas de cafeeiro (<i>Coffea arabica</i>) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares | |
| Resumo..... | 5 |
| Abstract..... | 6 |
| Introdução..... | 6 |
| Material e Métodos..... | 7 |
| Resultados e Discussão..... | 9 |
| Literatura Citada..... | 16 |
| ARTIGO CIENTÍFICO II. Herbicidas utilizados no cafeeiro afetam a associação com fungos micorrízicos arbusculares? | |
| Resumo..... | 19 |
| Abstract..... | 20 |
| Introdução..... | 20 |
| Material e Métodos..... | 21 |
| Resultados e Discussão..... | 24 |
| Literatura Citada..... | 47 |
| ARTIGO CIENTÍFICO III. Glyphosate afeta a associação micorrízica arbuscular em cafeeiro | |
| Resumo..... | 40 |
| Abstract..... | 40 |
| Introdução..... | 41 |
| Material e Métodos..... | 42 |
| Resultados e Discussão..... | 44 |
| Literatura Citada..... | 50 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 53 |

RESUMO

CARVALHO, Felipe Paolinelli de, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2014. **Implicações do uso de herbicidas em plantas de cafeeiro micorrizadas.** Orientador: Francisco Affonso Ferreira. Coorientadores: André Cabral França e Maria Catarina Megumi Kasuya.

Mudas de qualidade podem ser obtidas com a utilização de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e, assim, favorecer o crescimento inicial do cafeeiro durante a fase de formação da lavoura. Tal fase é bastante sensível à interferência de plantas daninhas, quando muitas vezes se faz necessário a aplicação de herbicidas. Alguns desses produtos podem interferir na efetividade da associação de FMAs com plantas de café. Neste trabalho, avaliou-se os benefícios da inoculação com fungos micorrízicos quanto à qualidade e ao estado nutricional das mudas de cafeeiro, além das implicações do uso de diferentes herbicidas, incluindo o glyphosate, em trabalho separado, no crescimento inicial de plantas de café colonizadas com FMA. Para isso foi conduzido um experimento a fim de comprovar os benefícios da associação micorrízica na produção e qualidade de mudas de cafeeiro, além de dois experimentos que trataram das implicações de herbicidas em plantas jovens de cafeeiro colonizadas. A inoculação do substrato com esporos das espécies de FMAs *Claroideoglossum etunicatum* e *Rhizophagus clarus* possibilitou produção de mudas de qualidade, as quais apresentaram melhor estado nutricional, desenvolvimento e crescimento. O herbicida flumioxazin apresentou a maior seletividade às plantas de café e fomesafen e sua mistura com fluazifop-p-butil mostraram seletividade moderada, enquanto metsulfuron-methyl, metribuzin e oxyfluorfen causaram danos mais severos em plantas colonizadas por *R. clarus*, *C. etunicatum* e por FMAs nativos. Subdose de 57,6 g ha⁻¹, correspondente a 4% da dose usual do glyphosate, foi suficiente para prejudicarem plantas de cafeeiro colonizadas pelos fungos, *R. clarus* e *Gigaspora margarita* ou por fungos micorrízicos nativos. Desse modo, a inoculação do substrato de produção de mudas com FMAs proporciona incremento na qualidade e desenvolvimento de mudas de café. A colonização e os benefícios nas plantas jovens de cafeeiro não foram reduzidas na presença do herbicida flumioxazin. Este pode ser utilizado como uma das opções para o controle das plantas daninhas na implantação de lavouras de café utilizando mudas micorrizadas. Os demais herbicidas devem ser evitados na fase inicial da lavoura, principalmente, onde se pretende usufruir dos benefícios da micorriza.

ABSTRACT

CARVALHO, Felipe Paolinelli de, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2014. **Implication of using herbicide on mycorrized coffee plants.** Adviser: Francisco Affonso Ferreira. Co-Advisers: André Cabral França and Maria Catarina Megumi Kasuya.

Better quality of seedlings can be obtained using arbuscular mycorrhizal fungi and, thus, improving initial growth during the formation of coffee plantation. In this phase the coffee plants are sensible to weed interference, when many times the using herbicides is necessary. Some products can affect the effectiveness of association on coffee plants. It was set up an experiment evaluating the benefits of substrate inoculation with mycorrhizal fungi, as to quality and nutrition of plants, further on implications of different herbicides and glyphosate on initial growth of coffee plant colonized with arbuscular mycorrhizal fungi. One experiment was set up to present the mycorrhizal benefits on production and quality of coffee seedlings, and two experiments about implication of different herbicides and glyphosate subdoses on young coffee plants. The substrate inoculation with spores of *Claroideoglossum etunicatum* and *Rhizophagus clarus* improved the quality of coffee seedlings, which showed better nutritional status and growth. The herbicide flumioxazin showed selectivity to coffee plants, fomesafen and a mixture with fluazifop-p-butyl were less selective and metsulfuron-methyl, metribuzin and oxyfluorfen caused several damage on plants colonized with *C. etunicatum* and *Rhizophagus clarus*. Glyphosate subdoses damaged coffee plants colonized with *Rhizophagus clarus* and *Gigaspora margarita* or indigenous mycorrhizal fungi. Thus, flumioxazin can be use as an option to weed control in crop implantation using mycorrized seedlings. The others products should be avoided in crop initial phase, mainly, when intend to use arbuscular mycorrhizal fungi.

INTRODUÇÃO GERAL

Dentre os componentes significativos do custo de produção da cafeicultura, destacam-se os gastos referentes à produção de mudas de qualidade e aqueles referentes ao controle das plantas daninhas na lavoura. Falhas nestas etapas podem resultar em mudas de baixa qualidade e controle ineficiente das plantas daninhas, as quais podem comprometer o desenvolvimento, a produtividade e a longevidade da lavoura (Silva e Ronchi, 2004; Oliveira et al., 2009). Para o controle das plantas daninhas, principalmente na implantação das lavouras, é frequente a utilização de herbicidas. O método químico tem a preferência dos produtores por ser eficiente, de baixo custo e de fácil aplicação. Outro ponto favorável ao método químico de controle de plantas daninhas é a baixa demanda de mão de obra, atualmente escassa, de baixa qualidade e onerosa no meio rural. Todavia, quando se utiliza herbicidas na lavoura, estes produtos acabam tendo como alvo final o solo, podendo causar impacto negativo sobre microrganismos fitopromotores do crescimento e, assim, benéficos para o cafeeiro.

Trabalhos têm evidenciado impacto de herbicidas sobre a microbiota e processos biológicos do solo (Malty et al., 2006; Santos et al., 2010; Reis et al., 2010). Resultados dessas pesquisas têm gerado grande preocupação quanto à sustentabilidade do agrossistema, pois estes micro-organismos são de grande importância na nutrição e resistência da cultura a fatores bióticos e abióticos.

Plantas de café fazem associação simbiótica mutualista entre suas raízes e fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Estes fungos colonizam as raízes e emitem hifas que se estendem pelo solo e auxiliam na absorção de nutrientes minerais, destacando o fósforo e outros poucos móveis no solo (Smith e Read, 2008). Plantas micorrizadas apresentam, ainda, maior sanidade e longevidade do sistema radicular (Smith e Read, 2008). Atribui-se isso à maior resistência das plantas micorrizadas a patógenos e insetos, tolerância à seca e alta temperatura do solo, além de proteção contra efeitos tóxicos de metais pesados presentes no solo (Smith e Read, 2008).

São conhecidas 46 espécies de FMAs que colonizam raízes de plantas de café, sendo predominantes as do gênero *Glomus* (Stürmer e Siqueira, 2008). Todavia, somente a ocorrência de colonização não é suficiente para garantir vantagem comercial da inoculação na produção das mudas. Acredita-se que, após a seleção de FMAs eficientes, a inoculação poderá ser facilmente adotada em viveiros como prática agrícola (Siqueira et al., 2010).

Esta técnica irá facilitar a produção de mudas da cultura e o estabelecimento da lavoura, propiciando aumento da produtividade e redução dos custos de produção. Acredita-se que o emprego de FMAs poderá se constituir numa das alternativas para otimização da obtenção de mudas de qualidade (Saggin Júnior et al., 1995), pois pode reduzir o tempo de formação da muda. Isso aumenta a produtividade do viveiro, a rotatividade na ocupação da infraestrutura e a eficiência de utilização de mão-de-obra treinada (Silveira et al., 2003), benefícios que são pretendidos por produtores de mudas.

Para o sucesso dessa tecnologia deve-se conhecer além da eficiência dos herbicidas no controle das plantas daninhas, também o impacto desses produtos sobre os microrganismos do solo. Estudos evidenciam os efeitos de herbicidas sobre esses microrganismos quanto a influência na colonização radicular por fungos simbiotes (Malty et al., 2006), redução da densidade populacional ou bioestimulação (Reis et al., 2008), sensibilidade da microbiota (Santos et al., 2010) e outros efeitos dependentes do herbicidas ou misturas de herbicidas aplicados (Reis et al., 2010).

Por se tratar de cultura perene, um dos fatores de maior importância na formação da lavoura cafeeira é a utilização de mudas de qualidade, com bom desenvolvimento, sadias e bem nutridas. Assim, o sistema de produção de mudas deve ser bem planejado, devido à importância deste período para a posterior formação da lavoura. A utilização de FMAs pode favorecer o desenvolvimento das mudas, porém a aplicação de herbicidas após o transplante pode afetar a associação com fungos inoculados ou fungos nativos da área de implantação da lavoura.

O desconhecimento dos efeitos de herbicidas utilizados na cafeicultura sobre os FMAs impossibilita a recomendação de produtos menos impactantes ou de métodos de controle alternativos que possam favorecer, ou que não afete essa associação. A hipótese deste trabalho é que a utilização de FMAs pode favorecer o crescimento e a produção de mudas de cafeeiro de qualidade, porém a aplicação de herbicidas após o transplante das mudas pode prejudicar e reduzir os benefícios dessa associação. Para isso deve-se comprovar os efeitos benéficos desta associação, quantificá-los não somente no crescimento do cafeeiro, mas também na qualidade da muda produzida. Juntamente com a comprovação do sucesso da micorriza, faz-se também necessário a verificação se herbicidas utilizados na cafeicultura podem causar alterações na interação entre FMAs e o cafeeiro, resultando em efeitos negativos para as plantas micorrizadas.

LITERATURA CITADA

- MALTY, J. S.; SIQUEIRA, J. O.; MOREIRA, F. M. S. Efeitos do glifosato sobre microrganismos simbiotróficos de soja, em meio de cultura e casa de vegetação. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.41, n.2, p.285-291, 2006.
- OLIVEIRA, A. R.; FREITAS, S. P.; VIEIRA, H. D. Controle de *Commelina benghalensis*, *C. erecta* e *Tripogandra diuretica* na cultura do café. **Planta Daninha**, v. 27, n. 4, p. 823-830, 2009.
- REIS, E. F.; CARNEIRO, M. A. C.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; ROTTA, D. A.; SOUSA, M. Y. Absorção de fósforo em doze genótipos de milho inoculados com fungo micorrízico arbuscular em solo de cerrado. **Ciência Rural**, v.38, n.9, p. 2441-2447, 2008.
- REIS, M. R.; SILVA, A. A.; PEREIRA, J. L. FREITAS, M. A. M.; COSTA, M. D.; SILVA, M. C. S.; SANTOS, E. A.; FRANÇA, A. C.; FERREIRA, G. L. Impacto do glyphosate associado com endossulfan e tebuconazole sobre microrganismos endossimbiontes da soja. **Planta Daninha**, v. 28, n. 1, p. 113-121, 2010.
- SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O.; GUIMARÃES, P. T. G.; OLIVEIRA, E. Colonização de cafeeiro por diferentes fungos micorrízicos: Efeitos na formação das mudas e no crescimento em solo fumigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 19, p. 213-220, 1995.
- SANTOS, E. A.; COSTA, M. D.; FERREIRA, L. R.; REIS, M. R.; FRANÇA, A. C.; SANTOS, J. B. Atividade rizosférica de solo tratado com herbicida durante processo de remediação por *Stizolobium aterrimum*. **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, v. 40, n. 1, p. 1-7, 2010.
- SILVA, A. A.; RONCHI, C. P. Manejo e controle de plantas daninhas em café. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. (Eds.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004, p. 337-396.
- SILVEIRA, A. P. D.; SILVA, L. R.; AZEVEDO, I. C.; OLIVEIRA, E.; MELETTI, L. M. M. Desempenho de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo, em diferentes substratos. **Bragantia**, v. 62, n. 1, p. 89-99, 2003.
- SIQUEIRA, J. O.; SOUZA, F. A.; CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M. **Micorrizas: 30 anos de pesquisa no Brasil**. Lavras: UFLA, 2010, 716 p. il.
- SMITH, S. E.; READ, D. J. **Mycorrhizal symbiosis**, 3rd ed. Academic Press. London, 2008, 803 p.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversidade de fungos Micorrízicos em ecossistemas brasileiros. In: MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O.; BRUSSARD, L. **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras, Ed. UFLA, 2008, p. 537-584.

ARTIGO CIENTÍFICO I

PRODUÇÃO E QUALIDADE DE MUDAS DE CAFEIEIRO (*Coffea arabica*) INOCULADAS COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES

Resumo: A qualidade das mudas de café pode comprometer o crescimento, desenvolvimento, produtividade e a longevidade da lavoura. Para produção de mudas normalmente utilizam substratos que podem reduzir a presença e atividade dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), os quais são de grande importância na produção de mudas de qualidade. Neste trabalho objetivou-se avaliar os benefícios da associação micorrízica na qualidade e o estado nutricional das mudas de cafeeiro. Sementes da variedade Catuaí Vermelho IAC 99 foram colocadas para germinar em sacolas de polietileno com substrato composto de solo e esterco. Foram avaliados três tratamentos: inoculação com *Claroideoglossum etunicatum*, com *Rhizophagus clarus* e uma testemunha sem inoculação. A inoculação dos substratos com os FMAs foram realizadas um dia antes da semeadura, depositando o inóculo logo abaixo da semente e 150 dias depois as mudas foram avaliadas. Mudas inoculadas apresentaram maior diâmetro de coleto, altura e matéria seca foliar, radicular e total. O índice de qualidade de Dickson mostrou qualidade superior de mudas inoculadas. Mudas inoculadas com *C. etunicatum* obtiveram teores e conteúdos superiores de fósforo e enxofre, já mudas inoculadas com *R. clarus* apresentaram maiores valores de cálcio, magnésio e enxofre, comparativamente com mudas não inoculadas. A inoculação com *C. etunicatum* aumentou a eficiência de absorção de fósforo, mas reduziu a eficiência de utilização deste nutriente, ficando acumulado nas plantas. Conclui-se que a inoculação com esporos das espécies de *C. etunicatum* e *R. clarus* no substrato permite a produção de mudas de café com melhor estado nutricional, maior crescimento e de qualidade.

Palavras chaves: *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus*, eficiência nutricional, Catuaí Vermelho IAC 99.

PRODUCTION AND QUALITY OF COFFEE (*Coffea arabica*) SEEDLINGS INOCULATED WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI

Abstract: The coffee seedlings quality can promote greater growth, development and crop longevity. Many substrates used to seedlings production are absent of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), which are important to production of best coffee seedlings. The objective of this work was to evaluate the benefits of mycorrhizal association on quality and nutrition of coffee seedlings. Seeds of Catuaí Vermelho IAC 99 cv. were sowed in polyethylene bags with substrate (soil and manure). The treatments were inoculation with *Claroideoglobus etunicatum*, with *Rhizophagus clarus* and without inoculation. The inoculation of substrate were one day before the sowing, putting the inoculums below the seeds and 150 days after the seedlings were evaluated. Inoculated seedlings showed bigger diameter, height and leaves, root and total dry matter. The quality index of Dickson showed greater quality of inoculated seedlings. Inoculation with *C. etunicatum* resulted on greater content and amount of phosphorus and sulfur, already seedlings inoculated with *R. clarus* obtained bigger values of calcium, magnesium and sulfur than seedlings non-inoculated. *C. etunicatum* increased the efficiency of phosphorus absorption, thus decreased the utilization efficiency, being this nutrient accumulated on plants. Concluded that the substrate inoculation with spores of *C. etunicatum* and *R. clarus* improve the coffee seedlings production, which result in better nutrition, growth and quality of seedlings.

Key-words: *Claroideoglobus etunicatum*, *Rhizophagus clarus*, nutritional efficiency, Catuaí Vermelho – IAC 99.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de café e Minas Gerais contribui com mais de 50% da produção nacional, resultando em geração de renda nas propriedades, emprego de mão de obra e, principalmente, transferência de renda entre os setores da economia brasileira (CONAB, 2014). Um dos fatores de maior importância na formação da lavoura cafeeira é a utilização de mudas de qualidade. Assim, o sistema de produção de mudas deve ser bem planejado.

A micorriza arbuscular é a simbiose mutualista mais comum nas plantas cultivadas. Nessa associação os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) obtêm carbono assimilado pela planta hospedeira e, por sua vez, aumenta a absorção de nutrientes, principalmente os pouco móveis no solo, como o fósforo e o zinco (Smith et al., 2011). A aquisição de P é aumentada com a absorção pelas hifas que exploram o solo e transporte até as células do

córtex radicular (Smith et al., 2011). Assim, a prática de inoculação permite reduzir a quantidade de corretivos e fertilizantes adicionados no substrato, além de aumentar a rapidez do crescimento de mudas e também a tolerância das plantas ao estresse do transplântio com maior sobrevivência no campo (Souza et al., 2006).

Os FMAs podem favorecer a produção de mudas de café de melhor qualidade, porém a recomendação da escolha do substrato para produção de mudas de café reduz a possibilidade de presença desses fungos. Isto devido ao substrato utilizado na maioria dos viveiros ser composto de amostra de subsolo e esterco de curral curtido, ambos os componentes desprovidos de esporos de FMAs (Souza et al., 2006).

Neste trabalho objetivou-se avaliar os efeitos da inoculação do substrato com FMAs na produção de mudas de café quanto ao crescimento, qualidade e estado nutricional das plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido utilizando a variedade Catuaí Vermelho IAC 99 de *Coffea arabica*. Para produção das mudas foram utilizadas sacolas de polietileno com capacidade de 0,46 dm³ de substrato, formulado com 300 dm³ de amostra de subsolo peneirada e 700 dm³ de esterco de curral curtido, adubado com 2,5 kg de superfosfato simples e 0,5 kg de cloreto de potássio. A análise química do substrato, após a adubação, apresentou o seguinte resultado: pH (água) de 6,7; teor de matéria orgânica de 4,5 daq kg⁻¹; P e K de 134,4 e 520 mg dm⁻³, respectivamente; Ca, Mg, Al, H+Al e CTC_{efetiva} de 3,2; 0,2; 0,4; 4,4 e 1,7 cmolc dm⁻³, respectivamente. Já a análise física mostrou teores de 42% de argila, 14% de silte e 44% de areia. Após a formulação do substrato determinou-se o potencial de inóculo do solo, que apresentou 14 esporos por 50 g de substrato.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três tratamentos e seis repetições. Os tratamentos constituíram da inoculação do substrato de mudas com duas espécies de FMAs, além de uma testemunha não inoculada. A unidade experimental foi constituída por uma caixa contendo 30 sacolas, cada uma com uma muda de cafeeiro, sendo a parcela útil representada por seis plantas centrais de cada caixa.

O substrato já nas sacolas foi inoculado ou não com FMAs, antes da semeadura das sementes, que foram previamente desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio (1%) e, após isso, lavadas com água destilada. A inoculação do substrato com as espécies FMAs

foi feita previamente à semente, aplicando-se 10 g de inoculante de cada espécie de FMAs. O inoculante foi colocado em orifício logo abaixo da semente. Os inoculantes foram compostos das espécies de fungos micorrízicos *Rhizophagus clarus* ou *Claroideoglossum etunicatum* na densidade de 120 esporos por 10 g de inóculo. Este material foi cedido pelo laboratório de microbiologia da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB/SC).

Após a semente foi mantida irrigação diária e as plantas daninhas que emergiram foram cortadas rente ao substrato para evitar o revolvimento do mesmo e sua interferência no sistema radicular das mudas. O experimento foi mantido em ambiente protegido como forma de evitar ou reduzir ao máximo a contaminação por outros microorganismos.

Aos 150 dias após a semente mensurou-se a altura, o diâmetro do caule e o número de par de folhas. A distância entre o meristema apical e o nível do substrato foi considerada a altura e medida com régua, o diâmetro do caule foi medido rente ao nível do substrato com auxílio de paquímetro. Posteriormente, a parte aérea foi separada do sistema radicular e dividida em folhas e caules. O sistema radicular foi amostrado, coletando-se fragmentos de um cm de comprimento e armazenando em solução de FAA 50%. Todo o material restante foi acondicionado em sacos de papel, em separado, medindo a área foliar utilizando medidor de área foliar LI-3100C e colocando as amostras em estufa de circulação forçada de ar (60 °C) para determinação da matéria seca e análise nutricional. Com os valores obtidos de matéria seca calculou-se a relação parte aérea:sistema radicular (RPAR) e altura:diâmetro do coleto (RAD), bem como o índice de qualidade de Dickson et al. (1960) utilizando a fórmula – IQD=[massa seca total/(RAD+RPAR)].

Os teores de fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre foram quantificados após digestão nitroperclórica; e o nitrogênio após solubilização sulfúrica. A quantificação do teor de fósforo foi por espectrofotometria de absorção molecular; de potássio por espectrofotometria de emissão de chama; de cálcio e magnésio por espectrofotometria de absorção atômica; de enxofre por turbidimetria (Malavolta et al., 1997); e de nitrogênio pelo método Kjeldahl (Kjeldahl, 1883).

A caracterização do estado nutricional das plantas levou em consideração os teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre (g do nutriente por g de matéria seca total da muda). Esses resultados foram usados para calcular o conteúdo de nutrientes total da planta (mg) e, posteriormente, os índices: eficiência de absorção = (conteúdo total do nutriente na planta)/(massa seca de raízes), conforme Swiader et al. (1994) e eficiência

de utilização = (massa seca total produzida)/(conteúdo total do nutriente na planta), segundo Siddqi et al. (1981).

Para determinação da porcentagem de colonização micorrízica radicular utilizou-se as amostras do sistema radicular das plantas armazenadas em FAA 50%. Estas foram lavadas e posteriormente amostrados, retirando-se fragmentos de, aproximadamente, 1 cm de comprimento das raízes finas, de forma que representasse todo o sistema radicular de cada planta. Estes fragmentos foram diafanizados com KOH (10%), acidificado com HCl (1%) e corados com azul de tripano em lactoglicerol 0,05% (Schenck, 1982), para posterior determinação da porcentagem de colonização radicular, realizada sob estereoscópio de luz, pela distribuição das amostras de raízes em placa de Petri quadriculada (Giovannetti e Mosse, 1980).

Todos os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Mudas de café inoculadas com as espécies de fungos micorrízicos arbusculares *C. etunicatum* ou *R. clarus* apresentaram diâmetro do coleto superior, respectivamente, de 18,6 e 15,3%, quando comparadas às mudas não inoculadas (Tabela 1). Considerando que mudas com diâmetro do coleto superior resultam em maior índice de sobrevivência após o transplântio no campo (Tatagiba et al., 2010) e o cultivo de mudas a pleno sol influencia no aumento do diâmetro do coleto (Ricci et al., 2006), essa característica pode ser indicativo de maior adaptação das muda em condição de maior radiação. E, dessa forma, as mudas de cafeeiro inoculadas com *C. etunicatum* poderiam ter maior capacidade de adaptação e sobrevivência em relação aos outros tratamentos em condições de transplântio para o campo.

A inoculação com *C. etunicatum* resultou em incremento na altura de 12,9%, em relação a não inoculada. Apesar disso, a altura de plantas tomada como variável isolada é inconsistente para verificar a qualidade das mudas (Silva et al., 2012). Ao utilizar essa característica isoladamente no processo de seleção para o plantio no campo, pode-se selecionar mudas maiores e com menor vigor.

O número superior de folhas das plantas inoculadas com *C. etunicatum* (Tabela 1) pode conferir a essas plantas maior rapidez em atingirem desenvolvimento adequado ao transplântio. A formação da muda em menor tempo é desejável, pois otimiza a obtenção de

mudas de qualidade, com conseqüente redução nos custos de produção. Isso pode aumentar a produtividade do viveiro, a rotatividade na ocupação da infraestrutura e a eficiência de utilização de mão-de-obra especializada, assim como também constatado por Silveira et al. (2003) trabalhando com diferentes substratos na produção de mudas de maracujá inoculadas com FMAs.

Não foi observado o efeito das mudas inoculadas com a espécie *R. clarus* sobre a altura da planta, número de folhas, nem o efeito da inoculação das duas espécies de FMAs sobre a área foliar (Tabela 1).

Tabela 1. Diâmetro do coleto (DC), altura (ALT), número de pares de folhas (NF) e área foliar (AF) de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) inoculadas, ou não, com fungos micorrízicos arbusculares, *Claroideoglossum etunicatum* ou *Rhizophagus clarus*, aos 150 dias após a semeadura

| Tratamentos | DC (mm) | ALT (cm) | NF | AF (cm²) |
|----------------------|----------------|-----------------|-----------|----------------------------|
| <i>C. etunicatum</i> | 5,81a | 33,97a | 6,75a | 2059,41a |
| <i>R. clarus</i> | 5,65a | 31,01ab | 6,31b | 1867,15a |
| Testemunha | 4,90b | 30,09b | 6,30b | 1864,36a |
| DMS | 0,47 | 3,02 | 0,43 | 230,12 |
| CV (%) | 4,75 | 5,27 | 3,67 | 6,59 |

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

A espécie *C. etunicatum* proporcionou maior acúmulo de matéria seca foliar por muda (Tabela 2), mesmo não verificando diferença na área foliar (Tabela 1). Esta relação permite verificar aumento da espessura foliar, mantendo a área foliar semelhante às plantas não inoculadas, assim aumentando a maquinaria fotossintética das mudas com maior estrutura por área de folha. Barreiro et al. (2006) consideram esta relação como índice fisiológico e observaram influência positiva da divisão e alongamento celular, resultando em acúmulo de matéria seca com ou sem a expansão de área foliar.

A matéria seca caulinar não foi alterada em função da inoculação das mudas com os FMAs (Tabela 2), apesar das mudas inoculadas com *C. etunicatum* apresentarem maior altura (Tabela 1). Esses dois resultados mostram que houve investimento em altura sem o incremento de matéria seca no caule, o que pode resultar em melhor arquitetura de parte aérea para interceptação de luz.

Plantas de café inoculadas com *R. clarus* ou *C. etunicatum* apresentaram matéria seca do sistema radicular superior às plantas sem inoculação (Tabela 2). Apesar de apenas

promoverem alterações micromorfológicas no sistema radicular, a micorriza arbuscular pode alterar positivamente a fisiologia do sistema radicular, modificando a arquitetura, taxa de crescimento e extensão e longevidade das raízes (Saggin Júnior e Silva, 2005).

Mudas que foram inoculadas com as espécies de FMAs apresentaram aumento de matéria seca total de aproximadamente 14,4% em relação à testemunha não inoculada (Tabela 2). A inoculação com fungos proporcionou em maior crescimento das mudas e com maior investimento em sistema radicular (Tabela 2). Segundo Chaves e Paiva (2004), essas características tornam as mudas mais tolerantes a estresses de condições de campo.

Tabela 2. Matéria seca foliar (MSF), caulinar (MSC), radicular (MSR) e total (MST) de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) inoculadas, ou não, com fungos micorrízicos arbusculares, *Claroideoglomus etunicatum* ou *Rhizophagus clarus*, aos 150 dias após a semeadura

| Tratamentos | MSF | MSC | MSR | MST |
|----------------------|-------------|-------|--------|--------|
| | -----g----- | | | |
| <i>C. etunicatum</i> | 14,75a | 9,39a | 14,43a | 38,57a |
| <i>R. clarus</i> | 13,74ab | 8,38a | 17,43a | 39,55a |
| Testemunha | 12,91b | 9,06a | 12,17b | 34,14b |
| DMS | 1,79 | 1,82 | 2,18 | 4,02 |
| CV (%) | 7,18 | 11,25 | 8,28 | 5,96 |

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Quanto aos índices de razão de altura e diâmetro do coleto (RAD), razão de matéria de parte aérea e sistema radicular (RPAR) e qualidade de Dickson (IQD), a inoculação resultou em maior qualidade das mudas em relação às não inoculadas. O maior IQD sugere qualidade superior das mudas, obtido na inoculação com *R. clarus*, seguido por *C. etunicatum* que, também, demonstrou benefício na obtenção de mudas de qualidade (Tabela 3). Este resultado mostra que ocorreu melhor distribuição de assimilados pelas mudas inoculadas com *R. clarus*, mesmo os valores de RAD e RPAR sendo inferiores (Tabela 3). O IQD considera a proporção entre as variáveis do crescimento vegetal e o seu aumento representa relações dessas variáveis que mostram plantas menos susceptíveis à estresses no campo (Dickson et al., 1960). Este índice variou entre 0,04 e 0,21 em trabalho conduzido por Marana et al. (2008). Tais autores verificaram o efeito de diferentes substratos e fertilizantes de liberação lenta na qualidade de mudas de café, sendo os valores inferiores devido à produção ter sido em tubetes.

Tabela 3. Razão altura e diâmetro (RAD), razão parte aérea e sistema radicular (RPAR) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) inoculadas, ou não, com fungos micorrízicos arbusculares, *Claroideoglomus etunicatum* ou *Rhizophagus clarus*, aos 150 dias após a semeadura

| Tratamentos | RAD | RPAR | IQD* |
|----------------------|------------|-------------|-------------|
| <i>C. etunicatum</i> | 5,85ab | 1,74a | 5,03b |
| <i>R. clarus</i> | 5,49b | 1,27b | 5,85a |
| Testemunha | 6,16a | 1,80a | 4,30c |
| DMS | 0,5 | 0,34 | 0,57 |
| CV (%) | 4,75 | 11,73 | 6,18 |

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade; * IQD = matéria seca total/(RAD+RPAR)

As espécies de FMAs inoculadas influenciaram de forma diferenciada o estado nutricional das mudas. A inoculação possibilitou aumento no teor de nitrogênio nas mudas, apenas quando inoculadas com *R. clarus* (Tabela 4). Mesmo com teores baixos, mudas inoculadas com *C. etunicatum* cresceram mais e acumularam maior quantidade de matéria seca, já mostrando melhor utilização deste nutriente.

A inoculação com *C. etunicatum* favoreceu a absorção de fósforo, obtendo as plantas aumento de 90,3% no teor desse nutriente (Figura 4). O qual foi superior aos demais tratamentos, quanto a quantidade por planta, obtendo o valor aumento de 200% de mudas não inoculadas (Tabela 5). Demonstrando que esse nutriente pouco móvel no solo tem sua absorção favorecida pela exploração de solo mais eficiente por hifas que as raízes (Smith et al., 2011).

O teor (Tabela 4) e o conteúdo (Tabela 5) de potássio não foram afetados pela inoculação, provavelmente pela alta disponibilidade e ser facilmente absorvido pelas raízes, além de possuir boa mobilidade no solo (Neves et al., 2009).

O acúmulo de cálcio e magnésio nas mudas foi dependente da espécie de FMA inoculada. A inoculação com *R. clarus* resultou em mudas com teores de 22 e 24,6% superiores de cálcio e magnésio, respectivamente, quando comparado à testemunha sem inoculação. O conteúdo de cálcio e magnésio também apresentaram diferenças entre os tratamento correspondentes com os respectivos teores (Figuras 4 e 5), mostrando a inoculação com *R. clarus* com valores superiores na aquisição destes nutrientes pelas plantas.

Observou-se 18,9 e 31,1% de enxofre a mais em mudas inoculadas com *C. etunicatum* e *R. clarus*, respectivamente. Seus valores de acúmulo por planta também foram superiores ao conteúdo de enxofre nas mudas não inoculadas. O micélio extraradicular emitido pelos FMAs possui grande importância no aumento da absorção de nutrientes em baixa disponibilidade e que possuem transporte lento no solo, facilitado sua aquisição pela exploração do solo (Saggin Júnior e Silva, 2005).

Tabela 4. Teor de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) inoculadas, ou não, com fungos micorrízicos arbusculares, *Claroideoglomus etunicatum* ou *Rhizophagus clarus*, aos 150 dias após a semeadura

| Tratamentos | N | P | K | Ca | Mg | S |
|----------------------|--------------------------------|-------|--------|--------|-------|-------|
| | ----- g kg ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>C. etunicatum</i> | 12,89b | 2,36a | 20,66a | 18,28b | 3,61b | 0,88a |
| <i>R. clarus</i> | 16,46a | 1,66b | 23,32a | 21,94a | 4,92a | 0,97a |
| Testemunha | 13,38ab | 1,24b | 23,94a | 17,08b | 3,95b | 0,74b |
| DMS | 3,53 | 0,49 | 3,83 | 1,98 | 0,84 | 0,11 |
| CV (%) | 15,67 | 17,62 | 10,68 | 6,54 | 12,7 | 8,33 |

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

Tabela 5. Conteúdo de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) inoculadas, ou não, com fungos micorrízicos arbusculares, *Claroideoglomus etunicatum* ou *Rhizophagus clarus*, aos 150 dias após a semeadura

| Tratamentos | N | P | K | Ca | Mg | S |
|----------------------|----------------|--------|---------|---------|---------|--------|
| | ----- mg ----- | | | | | |
| <i>C. etunicatum</i> | 480,93a | 88,05a | 771,52a | 684,21b | 134,89b | 32,94a |
| <i>R. clarus</i> | 581,57a | 61,95b | 877,52a | 821,04a | 184,49a | 36,29a |
| Testemunha | 501,88a | 43,72c | 843,32a | 603,55b | 139,31b | 26,21b |
| DMS | 146,98 | 16,16 | 173,78 | 117,30 | 38,67 | 5,39 |
| CV (%) | 17,80 | 15,81 | 13,21 | 10,54 | 15,96 | 10,69 |

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

A eficiência de absorção de nutrientes pode ser demonstrada pela quantidade de nutriente específico absorvido por quantidade de matéria seca radicular, órgão responsável pela absorção de nutrientes. Plantas de café inoculadas com *R. clarus* foram mais eficientes na absorção de nitrogênio (Tabela 6). A quantidade de matéria seca produzida por nutriente adquirido representa a eficiência de utilização deste nutriente no acúmulo de assimilados pelas plantas. Os resultados de eficiência de utilização nutricional indicam que plantas

inoculadas com *C. etunicatum* assimilaram maior quantidade de carbono por nitrogênio absorvido, que plantas inoculadas com *R. clarus* (Tabela 7).

Plantas que foram inoculadas com *C. etunicatum* apresentaram 77% mais eficiência na absorção de fósforo do substrato que com os demais tratamentos (Figura 6). Já os resultados da eficiência do uso do fósforo por mudas inoculadas mostram que mudas não inoculadas foram mais eficientes na utilização deste nutriente, fazendo melhor uso na produção de biomassa por quantidade de fósforo pelas mudas (Figura 7). Tristão et al. (2006) constataram resultados divergentes quanto ao teor, acúmulo e eficiência de utilização do fósforo. Esses autores não observaram diferenças na concentração e quantidade absorvida de fósforo, mas encontraram maior eficiência de utilização, entretanto, não foi acrescentado nenhum fertilizante no substrato utilizado, composto apenas de solo e esterco curtido.

Mudas não inoculadas foram mais eficientes na absorção de potássio comparado as mudas inoculadas (Figura 6), podendo ser devido à maior massa de matéria seca obtida por essas plantas colonizadas, fator levado em consideração no cálculo da eficiência de absorção. Assim, as mudas não diferiram quanto à eficiência de utilização desse nutriente (Figura 7).

Tabela 6. Eficiência de absorção de nitrogênio (EAN), fósforo (EAP), potássio (EAK), cálcio (EACa), magnésio (EAMg) e enxofre (EAS) em mg g^{-1} de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) inoculadas, ou não, com fungos micorrízicos arbusculares, *Claroideoglomus etunicatum* ou *Rhizophagus clarus*, aos 150 dias após a semeadura

| Tratamentos | EAN | EAP | EAK | EACa | EAM | EAS |
|----------------------|--------------------------------|-------|--------|--------|--------|-------|
| | ----- mg g^{-1} ----- | | | | | |
| <i>C. etunicatum</i> | 37,47ab | 6,50a | 50,17b | 49,00a | 9,83a | 2,33a |
| <i>R. clarus</i> | 45,54a | 3,67b | 55,50b | 47,17a | 10,67a | 2,00a |
| Testemunha | 31,04b | 3,67b | 69,17a | 49,50a | 11,50a | 2,00a |
| DMS | 13,16 | 1,35 | 13,43 | 7,20 | 2,47 | 0,47 |
| CV (%) | 21,86 | 18,43 | 14,56 | 9,36 | 14,62 | 14,12 |

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade; eficiência de absorção calculada pela quantidade de cada nutrientes absorvida por quantidade de matéria seca radicular.

O valor inferior de eficiência de utilização de cálcio observado em plantas inoculadas com *R. clarus* resulta do maior teor e conteúdo deste nutriente. Os demais nutrientes não apresentaram diferença na eficiência de utilização, demonstrando que a associação com FMAs não influencia na utilização desses nutrientes pelas plantas.

Tabela 7. Eficiência de utilização de nitrogênio (EUN), fósforo (EUP), potássio (EUK), cálcio (EUCa), magnésio (EUMg) e enxofre (EUS) de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) inoculadas, ou não, com fungos micorrízicos arbusculares, *Claroideoglossum etunicatum* ou *Rhizophagus clarus*, aos 150 dias após a semeadura

| Tratamentos | EUN | EUP | EUK | EUCa | EUMg | EUS |
|----------------------|-------------------------------|---------|--------|---------|---------|----------|
| | ----- g g ⁻¹ ----- | | | | | |
| <i>C. etunicatum</i> | 82,27a | 442,04c | 49,84a | 56,28ab | 291,87a | 1177,71a |
| <i>R. clarus</i> | 61,51b | 647,55b | 46,14a | 48,76b | 219,00a | 1103,95a |
| Testemunha | 75,25ab | 782,71a | 40,84a | 56,82a | 246,70a | 1304,90a |
| DMS | 18,97 | 119,38 | 9,16 | 2,02 | 74,37 | 228,43 |
| CV (%) | 16,41 | 12,08 | 12,69 | 9,16 | 18,6 | 12,07 |

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade; eficiência da uso calculada pela quantidade de matéria seca total por quantidade de cada nutriente absorvido.

A porcentagem de colonização por fungos micorrízicos arbusculares no sistema radicular das mudas de café (Tabela 8) comprovam que as espécies inoculadas proporcionaram maior ocorrência da micorriza, mostrando que o processo de inoculação foi eficiente. Além do maior número de esporos presentes no substrato, acrescidos pela inoculação, as espécies inoculadas podem apresentar melhor eficiência com plantas de cafeeiro, facilitando a formação da associação. A inoculação proporcionou aumento da colonização pelo fungo no sistema radicular, presumindo que os benefícios constatados nas mudas inoculadas são decorrentes da associação com essas espécies acrescidas no substrato antes da semeadura.

Tabela 8. Colonização micorrízica arbuscular em raízes de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica*) inoculadas, ou não, com fungos micorrízicos arbusculares, *Claroideoglossum etunicatum* ou *Rhizophagus clarus*, aos 150 dias após a semeadura

| Tratamentos | Colonização micorrízica (%) |
|----------------------|-----------------------------|
| <i>C. etunicatum</i> | 38,17a |
| <i>R. clarus</i> | 44,67a |
| Testemunha | 22,00b |
| DMS | 10,73 |
| CV (%) | 19,39 |

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

No geral, mudas inoculadas com os FMAs, *C. etunicatum* ou *R. clarus*, foram beneficiadas pela associação, possuindo maior crescimento e qualidade. As mudas também mostraram melhor estado nutricional, juntamente com o conteúdo de nutrientes, entretanto, os resultados foram dependentes na espécie inoculada e do nutriente. A produção de grão também pode ser favorecida, trabalho avaliando a produção de plantas que foram inoculadas na fase de muda, demonstra aumento de 50% da produção (Siqueira et al., 1998).

Conclui-se que a inoculação do substrato com esporos das espécies de FMAs *C. etunicatum* e *R. clarus* durante a fase de produção de mudas de cafeeiro beneficia o crescimento e qualidade das mudas produzidas, além de melhorarem seu estado nutricional. A absorção de fósforo é a mais beneficiada pela inoculação com *C. etunicatum*. A prática de inoculação do substrato de mudas de café é benéfica, mas o seu uso intensificado se dará quando a tecnologia de produção e inoculação tornar-se conhecida.

LITERATURA CITADA

BARREIRO, A. P.; ZUCARELI, V.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Análise de crescimento de plantas de manjeriço tratadas com reguladores vegetais. **Bragantia**, v. 65, n. 4, p. 563-567, 2006.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira – Café/Safra 2014**, Primeira Estimativa, Janeiro, 2014.

CHAVES, A. S.; PAIVA, H. N. Influência de diferentes períodos de sombreamento sobre a qualidade de mudas de fedegoso (*Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn.). **Scientia Forestalis**, n. 65, p. 22-29, 2004.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, L. J. Quality appraisal of white spruce and white pine seedlings stock in nurseries. **Forest Chronicle**, v.36, p. 10-13, 1960.

GIOVANNETTI, J. W.; MOSSE, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. **New Phytology**, v. 48, p. 489-500, 1980.

KJELDAHL, J. A new method for the determination of nitrogen in organic matter. **Zeitschrift für Analytische Chemie**, v. 22, n 1, p. 366 1883.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1997. 319p.

MARANA, J. P.; MIGLIORANZA, É.; FONSECA, É. P.; KAINUMA, R. H. Índice de qualidade e crescimento de mudas de café produzidas em tubetes. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 39-45, 2008.

NEVES, L. S.; ERNANI, P. R.; SIMONETE, M. A. Mobilidade de potássio em solos decorrentes da adição de doses de cloreto de potássio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 25-32, 2009.

SCHENCK, N. C. **Methods and principles of mycorrhizal research**. Saint Paul: The American Phytopathology Society Publication, 1982. 224 p.

RICCI, M. S. F.; COSTA, J. R.; PINTO, A. N.; SANTOS, V. L. S. Cultivo orgânico de cultivares de café a pleno sol e sombreado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 4, p. 569-575, 2006.

SAGGIN JUNIOR, O. J.; SILVA, E. M. R. Micorriza Arbuscular - Papel, funcionamento e aplicação da simbiose. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. (Org.). **Processos Biológicos no Sistema Solo-Planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável**. 1ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v. 1, p. 101-149.

SIDDQI, M. Y.; GLASS, A. D. M. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 4, p. 289-302, 1981.

SILVA, R. B. G.; SIMÕES, D.; SILVA, M. R. Qualidade de mudas clonais de *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* em função do substrato. **Revista brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 3, p. 297-302, 2012.

SILVEIRA, A. P. D.; SILVA, L. R.; AZEVEDO, I. C.; OLIVEIRA, E.; MELETTI, L. M. M. Desempenho de fungos micorrízicos arbusculares na produção de mudas de maracujazeiro-amarelo, em diferentes substratos. **Bragantia**, v. 62, n. 1, p. 89-99, 2003.

SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; FLORES-AYLAS, W. W.; GUIMARÃES, P. T. G. Arbuscular mycorrhiza inoculation and superfosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. **Mycorrhiza**, v. 7, p. 293-300, 1998.

SMITH, S. E.; JAKOBSEN, I.; GRØNLUND, M.; SMITH, F. A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. **Plant Physiology**, v. 156, p. 1050–1057, 2011.

SOUZA, V. C.; SILVA, R. A.; CARDOSO, G. D.; BARRETO, A. F. Estudo sobre fungos micorrízicos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 3, p. 612–618, 2006.

SWIADER, J. M.; CHYAN, Y.; FREIJI, F. G. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, v. 17, p. 1687-1699, 1994.

TATAGIBA, S. D.; PEZZOPANE, J. E. M.; REIS, E. F. Crescimento vegetativo de mudas de café arábica (*Coffea arabica* L.) submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Coffee Science**, v. 5, n. 3, p. 251-261, 2010.

TRISTÃO, F. S. M.; ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D. Fungos micorrízicos arbusculares na formação de mudas de cafeeiro, em substratos orgânicos comerciais. **Bragantia**, v. 65, p. 649-658, 2006.

ARTIGO CIENTÍFICO II

HERBICIDAS UTILIZADOS NO CAFEIEIRO AFETAM A ASSOCIAÇÃO COM FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES?

Resumo: Durante a fase de implantação da lavoura de café um dos grandes problemas está relacionado à interferência das plantas daninhas na cultura. Para solucionar este problema os produtores normalmente utilizam herbicidas. Alguns desses produtos podem interferir na efetividade de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que são de grande importância na formação do cafezal. Todavia, na literatura são escassos os trabalhos que abordam a influência de herbicidas sobre os efeitos da associação de FMAs e culturas. Na busca do conhecimento dessas interações realizou-se este trabalho com objetivo de avaliar os efeitos da aplicação de herbicidas no crescimento inicial de plantas de café inoculadas com FMAs. O experimento foi realizado em casa de vegetação, utilizando-se mudas de cafeeiro com quatro a cinco pares de folhas (*Coffea arabica*) cultivar Catuaí Vermelho IAC 99. Os tratamentos foram dispostos no esquema utilizado foi de fatorial 3x8, sendo o primeiro fator referente a dois tratamentos de inoculação com duas espécies de FMAs, *Claroideoglossum etunicatum* e *Rhizophagus clarus*, mais um tratamento com plantas não inoculadas; e o segundo fator referente à aplicação de sete herbicidas (chlorimuron-ethyl, metsulfuron-methyl, metribuzin, fomesafen, flumioxazin, oxyfluorfen e a mistura (fomesafen + fluazifop-p-butil), além de uma testemunha sem a aplicação de herbicida, no delineamento em blocos casualizados com quatro repetições. Considerando todos os parâmetros avaliados, conclui-se que o flumioxazin apresentou a maior seletividade ao cafeeiro na fase inicial do crescimento das plantas, podendo ser utilizado como uma das opções para o controle das plantas daninhas na implantação de lavouras de café, sem afetar os benefícios da colonização micorrízica.

Palavras chaves: *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus*, flumioxazin, fomesafen, chlorimuron-ethyl, metribuzin, oxyfluorfen, metsulfuron-methyl.

CAN HERBICIDES USED ON COFFEE CROP AFFECT THE ASSOCIATION WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI?

Abstract: The weed interference is a big problem on coffee crop in initial growth. The weeding is onerous and hard-working, so the farmers using herbicides. Some these products can to influence the effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), which are important on initial growth of coffee crop. However, there are no works that show the influence of herbicides on coffee plants colonized with AMF. Thus, the objective of this work was to evaluate the effects of herbicides application on initial growth of coffee plants colonized with AMF. The experiment was realized in greenhouse, using four to five pair of leaves seedlings of coffee (*Coffea arabica*) Catuaí Vermelho – IAC 99 cultivar. The treatments were arranged in 3x8 factorial scheme, being the first factor referent to two treatments of inoculation with two different species of AMF, *Claroideoglobus etunicatum* and *Rhizophagus clarus*, and one treatments with non-inoculated plants; and the second factor referent to application of seven herbicides, chlorimuron-ethyl, metsulfuron-methyl, metribuzin, fomesafen, the mixture fluazifop-p-butyl + fomesafen, flumioxazin and oxyfluorfen, and one control of plant without herbicide application; adopting randomized blocks with four replications. Considering all the parameters evaluated, concluded that the flumioxazin showed the selectivity to coffee plants on initial growth, can be utilized as a option to weed control on formation phase of coffee crop, no affecting the benefits of mycorrhizal colonization.

Key-words: *Claroideoglobus etunicatum*, *Rhizophagus clarus*, flumioxazin, fomesafen, chlorimuron-ethyl, metribuzin, oxyfluorfen, metsulfuron-methyl.

INTRODUÇÃO

Durante a fase de formação de lavouras de café um dos grandes problemas enfrentados pelos produtores está relacionado à interferência das plantas daninhas com a cultura. Isto se torna de grande importância porque as plantas de café apresentam crescimento inicial lento e são muito susceptíveis à competição com as plantas daninhas que se desenvolvem próximas à linha do plantio. Falhas no controle de plantas daninhas nesse estágio de desenvolvimento podem comprometer o desenvolvimento, a produtividade e a longevidade da lavoura (Silva e Ronchi, 2004; Oliveira et al., 2009). O controle de plantas daninhas visa minimizar sua interferência na cultura de interesse. No entanto, entre os métodos de controle de plantas daninhas, existe a preferência dos produtores pelo químico, por ser muitas vezes o controle mais eficiente, menos dispendioso e de fácil aplicação (Silva e Ronchi, 2004). Todavia, alguns desses produtos

podem interferir na efetividade de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que são de grande importância na formação de mudas de café de qualidade.

Fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) podem ser encontrados em diversos solos e podem formar simbiose, denominada micorriza, com a maioria das plantas cultivadas (Gianinazzi et al., 2010). Micorriza é a associação mutualista entre FMAs e raízes de plantas, pela qual os fungos obtêm carbono oriundo da fotossíntese da planta, que, por sua vez, absorvem maior quantidade de nutriente, em particular aqueles poucos móveis no solo, a exemplo do fósforo (Gianinazzi et al., 2010; Lendenmann et al., 2011).

Atualmente existe grande preocupação da sociedade para que os sistemas de produção agrícolas tenham sustentabilidade econômica, ambiental e social. A inoculação de culturas com FMAs torna possível reduzir o uso de fertilizantes e defensivos, seja pelo uso mais eficiente de nutrientes ou pela redução da ocorrência de doenças (Saggin Júnior e Siqueira, 1996). Nesse sentido, acarreta em menor emprego de produtos químicos na agricultura.

Segundo Stürmer e Siqueira (2008), 46 espécies de FMAs colonizam plantas de café. Segundo esses autores, para o cafeeiro, as espécies mais eficientes têm sido *C. etunicatum*, *R. clarus*, *Funneliformis mosseae* e *Gigaspora margarita*. A fase de viveiro do cafeeiro facilita a aplicação de inoculante de FMAs eficientes, podendo ser inserida na formulação do substrato e não gerar trabalho adicional a produção de mudas (Saggin Júnior e Siqueira, 1996).

Muitas práticas agrícolas podem influenciar no estabelecimento da simbiose e nas vantagens proporcionadas, tais como o preparo do solo, o manejo da cultura e os tratamentos culturais. Todavia, na literatura são inexistentes trabalhos que abordam a influência de herbicidas sobre os benefícios da associação para o cafeeiro colonizado. Deste modo, o melhor entendimento das implicações do uso de herbicidas sobre a micorriza em plantas jovens de café tem como objetivo preconizar o potencial e garantir os benefícios da simbiose na planta. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento inicial e a colonização micorrízica arbuscular de plantas de café inoculadas com FMAs após aplicação de herbicidas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido utilizando a cultivar Catuaí Vermelho IAC 99 de *Coffea arabica*. Para a produção das mudas foram utilizadas sacolas

de polietileno com capacidade de 0,46 dm³ de substrato, formulado com 300 dm³ de amostra de subsolo peneirada e 700 dm³ de esterco de curral curtido, adubado com 2,5 kg de superfosfato simples e 0,5 kg de cloreto de potássio. A análise química do substrato, após a adubação, apresentou o seguinte resultado: pH (água) de 6,7; teor de matéria orgânica de 4,5 daq kg⁻¹; P e K de 134,4 e 520 mg dm⁻³, respectivamente; Ca, Mg, Al, H+Al e CTC_{efetiva} de 3,2; 0,2; 0,4; 4,4 e 1,7 cmolc dm⁻³, respectivamente. Já a análise física mostrou teores de 42% de argila, 14% de silte e 44% de areia. Após a formulação do substrato determinou-se o potencial de inóculo do solo, que apresentou 14 esporos por cada 50 g de susbtrato.

Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 3x8, sendo o primeiro fator referente a plantas inoculadas com duas espécies de FMAs e plantas não inoculadas; enquanto o segundo fator referente à aplicação dirigida de sete herbicidas, além de uma testemunha sem herbicida (Tabela 1). O delineamento adotado foi de blocos casualizados e a unidade experimental foi constituída por um vaso contendo uma planta de cafeeiro.

Tabela 1. Tratamentos aplicados em plantas jovens de café, inoculadas ou não com fungos micorrízicos arbusculares aos 50 dias após o transplântio

| Tratamentos | | Dose expressa em L ou g ha ⁻¹ | |
|-------------------|-------------------------------|--|-------------------|
| Produto Comercial | Ingrediente Ativo | Produto Comercial | Ingrediente Ativo |
| Classic | Chlorimuron-ethyl | 70,0 g | 17,5 g |
| Ally | Metsulfuron-methyl | 6,0 g | 4,8 g |
| Sencor 480 | Metribuzin | 1,5 L | 720,0 g |
| Flex | Fomesafen | 1,0 L | 250,0 g |
| Flex + Fusilade | Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 1,0 L + 0,75 L | 250,0 g + 187,5 g |
| Flumizyn 500 | Flumioxazin | 50,0 g | 25,0 g |
| Goal BR | Oxyfluorfen | 2,0 L | 480,0 g |
| Testemunha | ----- | ----- | ----- |

A inoculação das duas espécies de FMAs foi realizada previamente à semeadura, aplicando-se o inoculante em orifício de 10 cm logo abaixo da semente, sendo 10 g de inoculante de cada espécie de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Os inoculantes foram compostos por espécies de fungos micorrízicos *R. clarus* e *C. etunicatum* na densidade de 120 esporos por 10 g de inóculo.

Foram utilizadas mudas com quatro a cinco pares de folhas definitivas obtidas a partir de sementes que foram semeadas, após desinfestação superficial em solução de

hipoclorito de sódio (1%) e enxaguadas com água destilada. Essas mudas foram transplantadas para vasos com volume de 12 dm³ e adubadas no transplantio e em cobertura, de acordo com a Comissão de Fertilidade do Solo de Minas Gerais (Guimarães et al., 1999).

A aplicação dos herbicidas foi realizada 50 dias após o transplantio utilizando um pulverizador costal pressurizado a CO₂ equipado com uma ponta tipo leque (TT 110 02), mantido a pressão constante de 250 kPa, aplicando o equivalente a 200 L ha⁻¹ de calda. No momento da aplicação a velocidade do vento, umidade relativa e temperatura permaneceram em torno de 6 km h⁻¹, 57 % e 29 °C, respectivamente. A pulverização foi efetuada em jato dirigido, sendo que apenas o terço superior das plantas não foi atingido pelos herbicidas, verificado por papel hidrossensível distribuído no dossel das plantas.

O efeito tóxico dos herbicidas sobre as plantas foi avaliado visualmente aos 14 e 56 dias após a aplicação dos herbicidas, utilizando-se escala de valores variando de zero a 100 % que corresponderam à ausência de injúria e morte total das plantas, respectivamente. Também foi usado, com intuito de comparação, a escala da European Weed Research Council (Tabela 2).

Tabela 2. Interpretação de notas para avaliação visual de fitotoxicidade de herbicidas em culturas agrícolas, adotada pelo European Weed Research Council (Frans, 1972).

| Nota (0-100%) | Nota (EWRC) | Interpretação |
|---------------|-------------|---------------|
| 0-5 | 1 | Nulo |
| 6-15 | 2 | Muito Leve |
| 16-29 | 3 | Leve |
| 30-49 | 4 | Moderado |
| 50-69 | 5 | Médio |
| 70-79 | 6 | Quase Forte |
| 80-89 | 7 | Forte |
| 90-99 | 8 | Muito Forte |
| 100 | 9 | Morte |

Com o auxílio de fluorímetro com amplitude de pulso modulado (FMS2, Hansatech, Norfolk, Reino Unido) avaliou-se, aos 15 e 45 DAA dos herbicidas, a taxa de transporte de elétrons fotossintéticos no fotossistema 2 ($\mu\text{mols elétrons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), parâmetro que permite detectar efeitos de alguns herbicidas na maquinaria fotossintética da planta (Araldi et al., 2011).

Aos zero e 56 dias após a aplicação (DAA) dos herbicidas, mensurou-se a altura e o diâmetro do caule, estimando a área foliar por método não destrutivo (Antunes et al., 2008). Aos 56 DAA as plantas foram cortadas rente ao solo, separadas as folhas, caules e raízes. Em seguida, todo o material foi lavado e acondicionado individualmente em sacos de papel e levadas à estufa de circulação forçada de ar (60 °C) até a obtenção de massa constante para determinação da matéria seca das partes das plantas, além da análise de fósforo, em laboratório, pelo método da vitamina C modificado (Braga e Defelipo, 1974), após o material moído e submetido a solubilização nitroperclórica.

Para avaliar a colonização das raízes do cafeeiro por FMAs foram coletadas amostras do sistema radicular aos 56 DAA dos herbicidas. O sistema radicular foi lavado e, posteriormente, amostrado, retirando-se fragmentos de raízes finas de cada planta com, aproximadamente, 1 cm de comprimento, de forma que represente todo o sistema radicular. As raízes coletadas foram clarificadas com KOH (10%) e coradas com azul de tripano em lactoglicerol 0,05%. Para contagem da colonização micorrízica foi utilizada a técnica da placa quadriculada, contando cada interceptação de raiz com as linhas da placa, dispostas horizontal e verticalmente à 1 cm de cada, como colonizada ou não e calculado a relação em percentagem das interceptações colonizadas.

Os dados de diâmetro do caule, altura de plantas e área foliar avaliados no momento da aplicação dos herbicidas foram subtraídos dos mensurados aos 56 dias após a pulverização, resultando em valores acumulados durante os 56 dias sobre efeito dos herbicidas. Para a interpretação dos dados, efetuou-se a análise de variância de todos os dados coletados, utilizando-se o teste F ($p \leq 0,05$). Logo após, realizou-se o desdobramento da interação significativa dos níveis do fator herbicida dentro de cada nível do fator inoculação, empregando-se o critério de agrupamento de Scott-Knott a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas de cafeeiro que receberam flumioxazin, fomesafen e oxyfluorfen apresentaram pontos necróticos nas folhas, sendo essas manchas maiores nas plantas submetidas ao oxyfluorfen e menores com aplicação do flumioxazin. Tais sintomas foram semelhantes aos encontrados por Ronchi e Silva (2003), que verificaram maior severidade do herbicida oxyfluorfen. Esses autores observaram sintomas para o metribuzin com aparecimento de regiões cloróticas expressivas nas folhas em fase de expansão no

momento da aplicação, e para o chlorimuron-ethyl, com área cloróticas menos expressivas e encarquilhamento das folhas novas, modificando o crescimento da lâmina foliar.

A intoxicação causada por herbicidas nas plantas, avaliada visualmente após 14 dias da aplicação, foi significativa em relação às plantas não tratadas (Tabela 3). Dentre os herbicidas avaliados chlorimuron-ethyl, metsulfuron-methyl, metribuzin e oxyfluorfen resultaram em danos mais expressivos, independente das plantas terem sido inoculadas com FMA ou não. Fomesafen, a sua mistura (fluazifop-p-butyl + fomesafen) e flumioxazin causaram intoxicação nas plantas de café sem inoculação (Tabela 3). Observou-se também que plantas não inoculadas submetidas à aplicação do metribuzin e oxyfluorfen apresentaram maior dano, e quando se inoculou a espécie *C. etunicatum* as plantas demonstraram efeitos menos expressivos (Tabela 3). Segundo escala de interpretação de notas de intoxicação do EWRC, podemos adaptar as percentagens e classificar os efeitos dos herbicidas nas plantas de café após 14 dias da aplicação. Assim, o produto fomesafen resultou em intoxicação nula, fomesafen + fluazifop-p-butyl e flumioxazin resultaram em intoxicação muito leve; chlorimuron-ethyl e metribuzin em leve; metsulfuron-methyl em moderada, e oxyfluorfen classificou-se como de intoxicação média em plantas jovens de café. Destaca-se que em plantas não inoculadas o oxyfluorfen obteve classificação de quase forte (61-70%), já plantas inoculadas com *C. etunicatum* apresentaram no máximo danos leves com aplicação de oxyfluorfen e metsulfuron-methyl (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliação visual da intoxicação de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas por herbicidas, observada aos 14 dias após aplicação (dados expressos em % em relação à testemunha)

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|------------------|--------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 0,00aA | 0,00aA | 0,00aA | 0,00a |
| Chlorimuron-ethyl | 28,75cA | 15,00bA | 31,25bA | 25,00c |
| Metsulfuron-methyl | 38,75cA | 21,25bA | 41,25bA | 33,75c |
| Metribuzin | 46,25cB | 13,75bA | 26,25bAB | 28,75c |
| Fomesafen | 15,00bA | 2,50aA | 5,00aA | 7,50b |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 17,50bA | 3,75aA | 23,75bA | 15,00b |
| Flumioxazin | 25,00bA | 8,75aA | 6,25aA | 13,33b |
| Oxyfluorfen | 62,50cB | 21,25bA | 40,00bAB | 41,25c |
| CV (%) | 35,98 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Após 56 dias da aplicação dos herbicidas, constatou-se visualmente maior dano nas plantas que receberam aplicação de metribuzin em relação aos demais produtos, enquanto que sintomas de intoxicação mais leves foram observados em plantas pulverizadas com chlorimuron-ethyl, fomesafen, fomesafen + fluazifop-p-butyl e flumioxazin (Tabela 4). Os herbicidas metsulfuron-methyl e oxyfluorfen provocaram intoxicação intermediária comparado aos demais herbicidas. Todos os herbicidas testados promoveram efeito negativo nas plantas não inoculadas com FMAs, constatando-se que os herbicidas chlorimuron-ethyl, fomesafen, fomesafe + fluazifop-p-butyl e flumioxazin promoveram sintomas mais leves, seguidos por maiores danos do metsulfuron-methyl, sendo metribuzin e oxyfluorfen os produtos mais tóxicos para essas plantas. Quando inoculadas com os FMAs as plantas não apresentaram efeitos do herbicida flumioxazin independentemente da espécie de FMA inoculada, sendo que plantas colonizadas com *C. etunicatum* também não mostraram sintomas relacionados ao chlorimuron-ethyl e da mistura (fomesafen + fluazifop-p-butyl) (Tabela 4).

Tabela 4. Avaliação visual da intoxicação de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas por herbicidas, observada aos 56 dias após aplicação. (dados expressos em % em relação à testemunha)

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|------------------|--------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 0,00aA | 0,00aA | 0,00aA | 0,00a |
| Chlorimuron-ethyl | 15,00bA | 7,50aA | 10,00bA | 10,83b |
| Metsulfuron-methyl | 27,50cA | 18,75bA | 26,25cA | 24,17c |
| Metribuzin | 58,75dB | 23,75bA | 36,25cAB | 39,58d |
| Fomesafen | 15,00bA | 11,25bA | 13,75bA | 13,33b |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 11,25bA | 7,50aA | 21,25cA | 13,33b |
| Flumioxazin | 20,00bB | 6,25aAB | 3,75aA | 10,00b |
| Oxyfluorfen | 48,75dB | 12,50bA | 16,25cA | 25,83c |
| CV (%) | 32,07 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os herbicidas metribuzin, flumixazin e oxyfluorfen foram mais danosos em plantas não inoculadas (Tabela 3), possivelmente os fungos testados beneficiaram o crescimento e estado nutricional das plantas e acarretaram em maior tolerância aos herbicidas.

Passados 56 dias da aplicação, observou-se recuperação das plantas em relação aos efeitos negativos provocados pelos herbicidas testados, exceto para metribuzin e fomesafen (Tabela 4). Inicialmente, fomesafen causou pequenos pontos necróticos no limbo foliar, que foram progredindo e após 56 dias resultaram em deformações em toda área foliar atingida. Metribuzin resultou em regiões cloróticas na região distal das folhas atingidas pelo herbicida, que progrediram com o tempo até o fim do período do experimento. Ronchi e Silva (2003) observaram sintomas semelhantes do metribuzin, mas não constataram nenhum efeito do fomesafen, resultando em intoxicação nula deste produto.

No geral, as plantas de café tratadas com metribuzin obtiveram menor diâmetro do caule, o mecanismo de ação desse herbicida é a inibição do fotossistema 2, resultando em sintoma nas plantas susceptíveis que se caracterizam por clorose e necrose. Este herbicida pode ser absorvido pelas raízes e por folhas das plantas tratadas, podendo ser recomendado para aplicações em pré e pós-emergência inicial. Portanto, na cultura pode ocorrer maior absorção tanto no momento da aplicação, quanto posteriormente via radicular, sendo os maiores e mais prolongados efeitos deste herbicida, possivelmente, explicados pela sua maior absorção ao longo do tempo.

A mistura fomesafen + fluazifop-p-butyl, bem como, oxyfluorfen prejudicaram o diâmetro do caule comparando-se as médias das plantas inoculadas com cada FMA e não inoculadas (Tabela 5). Por outro lado, não foi observada diferença entre da inoculação independentemente do herbicida, portanto os herbicidas não diferiram nas plantas não inoculadas ou inoculadas com *C. etunicatum* e *R. clarus*, tomadas separadamente.

Tabela 5. Diâmetro (mm) acumulado de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, durante 56 dias após a aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|------------------|-------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 3,03aA | 3,48aA | 3,13aA | 3,21a |
| Chlorimuron-ethyl | 2,98aA | 3,50aA | 2,65aA | 3,04a |
| Metsulfuron-methyl | 3,98aA | 3,53aA | 3,15aA | 3,55a |
| Metribuzin | 1,77aA | 2,55aA | 2,15aA | 2,16b |
| Fomesafen | 3,00aA | 4,98aA | 3,80aA | 3,93a |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 2,75aA | 2,53aA | 2,43aA | 2,57b |
| Flumioxazin | 3,73aA | 3,63aA | 3,10aA | 3,48a |
| Oxyfluorfen | 2,25aA | 2,60aA | 2,80aA | 2,55b |

CV (%)

29,12

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Plantas submetidas à aplicação de metribuzin e a mistura fomesafe + fluazifop-p-butyl mostraram altura inferior aos demais tratamentos. Apenas o herbicida metribuzin afetou negativamente a altura das plantas de café não inoculadas. A altura de plantas colonizadas por *C. etunicatum* não foi alterada pela aplicação dos herbicidas, já quando colonizadas com *R. clarus*, metsulfuron-methyl e oxyfluorfen influenciaram positivamente essa variável (Tabela 5). O herbicida metsulfuron-methyl pertence ao grupo químico das sulfonilúreas e inibe a ação da enzima acetolactato sintase (ALS), a qual se encontra na rota da síntese dos aminoácidos essenciais valina, leucina e isoleucina. Sem esses aminoácidos a síntese de proteínas não ocorre e a planta pode morrer. Somente em tecidos mais velhos o herbicida não possui muita atividade devido à falta de produção de novos aminoácidos, além da ação lenta do produto (Koschnick et al., 2007), podendo causar distúrbios no crescimento, como o estiolamento da planta. Como foi observado na aplicação de chlorimuron-ethyl, herbicida inibidor da ALS, plantas que não foram inoculadas obtiveram altura superior, enquanto a inoculação com *C. etunicatum* e *R. clarus* resultou em altura inferior. O fomesafen reduziu a altura de plantas que foram inoculadas com *C. etunicatum*, e oxyfluorfen prejudicou o incremento em altura de plantas na ausência da inoculação (Tabela 6).

Tabela 6. Altura (cm) acumulada de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, após 56 dias da aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|------------------|-------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 7,65aA | 7,50aA | 6,90bA | 7,35a |
| Chlorimuron-ethyl | 9,25aA | 5,88aB | 6,25bB | 7,13a |
| Metsulfuron-methyl | 8,33aA | 6,68aA | 9,25aA | 8,08a |
| Metribuzin | 4,57bA | 4,73aA | 6,38bA | 5,22b |
| Fomesafen | 10,43aA | 6,25aB | 7,88bAB | 8,18a |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 7,33aA | 6,03aA | 5,18bA | 6,18b |
| Flumioxazin | 8,13aA | 6,50aA | 7,10bA | 7,24a |
| Oxyfluorfen | 7,25aB | 7,88aAB | 10,75aA | 8,63a |
| CV (%) | 23,43 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A área foliar de plantas submetidas ao chlorimuron-ethyl foi superior àquelas sem aplicação de herbicida, enquanto os demais herbicidas reduziram o incremento em área foliar das plantas, o que também foi verificado nas plantas inoculadas com *C. etunicatum* (Tabela 7). Chlorimuron-ethyl e metsulfuron-methyl agem na inibição da enzima acetolactato sintase e interferem na síntese de aminoácidos ramificados. Essa inibição pode resultar na morte de plantas susceptíveis ou em crescimento desordenado, como observado nas folhas das plantas de café tratadas com esses herbicidas. Mesmo obtendo maior crescimento, plantas inoculadas com *C. etunicatum* possuíam folhas encarquilhadas e com regiões cloróticas e em depressão. As diferenças apresentadas pelas médias podem ser resultantes da ação dos herbicidas em plantas inoculadas, já que não foi apresentando diferença entre os herbicidas em plantas não inoculadas.

Em plantas inoculadas com a espécie de FMA *R. clarus* apenas o herbicida chlorimuron-ethyl não afetou a área foliar, constatando valores inferiores com aplicação dos outros herbicidas (Tabela 7). Todos os herbicidas influenciaram a área foliar e sua determinação é essencial em estudos agrônômicos e fisiológicos, envolvendo o crescimento vegetal e eficiência fotossintética. Essa variável influencia o crescimento e a produtividade, mostrando ser fundamental componente para interpretação do crescimento vegetal (Antunes et al., 2008). Assim, todos os herbicidas, de alguma forma, afetaram o crescimento das plantas inoculadas, independentemente do FMA inoculado. *C. etunicatum* influenciou em maior área foliar de plantas submetidas ao herbicida chlorimuron-ethyl e *Rhizophagus clarus* em menor área foliar de plantas tratadas com a mistura fomesafen + fluazifop-p-butyl (Figura 7).

Tabela 7. Área foliar (cm²) acumulada de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, após 56 dias da aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|--------------------|----------------------------------|----------------------|------------------|----------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 906,25aA | 1348,95bA | 1451,30aA | 1235,50b |
| Chlorimuron-ethyl | 1163,23aB | 2222,65aA | 1556,03aB | 1647,30a |
| Metsulfuron-methyl | 961,18aA | 687,13cA | 884,83bA | 844,38c |
| Metribuzin | 572,84aA | 640,10cA | 791,25bA | 668,06c |

| | | | | |
|--|-----------|-----------|-----------|---------|
| Fomesafen | 1409,33aA | 605,73cB | 835,43bAB | 950,16c |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 1122,30aA | 747,20cAB | 518,08bB | 795,86c |
| Flumioxazin | 894,45aA | 881,75cA | 788,43bA | 854,88c |
| Oxyfluorfen | 944,03aA | 877,00cA | 913,55bA | 911,53c |
| CV (%) | 35,30 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Observou-se que plantas não inoculadas obtiveram menores valores de matéria seca caulinar após aplicação dos herbicidas metribuzin e oxyfluorfen. Além desses herbicidas o metsulfuron-methyl também reduziu a matéria seca do caule de plantas inoculadas com *R. clarus*, assim como a média de cada herbicida. Plantas inoculadas com *C. etunicatum* não apresentaram redução da matéria seca caulinar quando submetidas a aplicação dos herbicidas (Tabela 8).

Tabela 8. Matéria seca caulinar (g) de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, aos 56 dias após aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|--|----------------------------------|----------------------|------------------|--------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 12,56aA | 16,31aA | 15,39aA | 14,75a |
| Chlorimuron-ethyl | 13,71aA | 11,65aA | 15,26aA | 13,54a |
| Metsulfuron-methyl | 10,67aA | 12,56aA | 9,11bA | 10,78b |
| Metribuzin | 6,55bA | 10,36aA | 8,66bA | 8,52b |
| Fomesafen | 12,60aA | 14,74aA | 13,92aA | 13,75a |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 14,10aA | 14,60aA | 15,16aA | 14,62a |
| Flumioxazin | 11,76aA | 13,41aA | 15,61aA | 13,59a |
| Oxyfluorfen | 6,94bA | 11,88aA | 11,84bA | 10,22b |
| CV (%) | 26,58 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Assim como apresentado em relação à matéria seca de caule, os herbicidas que afetaram a matéria seca foliar foram metsulfuron-methyl, metribuzin e oxyfluorfen, também não obtendo diferença entre os tratamentos com herbicidas em plantas inoculadas com *C. etunicatum* (Tabela 9).

Tabela 9. Matéria seca foliar (g) de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, aos 56 dias após aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|--|----------------------------------|----------------------|------------------|--------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 20,23aA | 21,56aA | 23,62aA | 21,81a |
| Chlorimuron-ethyl | 22,84aA | 20,04aA | 20,69aA | 21,19a |
| Metsulfuron-methyl | 13,64bA | 18,94aA | 15,10bA | 15,89b |
| Metribuzin | 10,83bA | 12,43aA | 16,12bA | 13,13b |
| Fomesafen | 25,11aA | 22,07aA | 24,22aA | 23,80a |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butil | 20,07aA | 23,03aA | 21,81aA | 21,63a |
| Flumioxazin | 21,00aA | 18,20aA | 23,32aA | 20,84a |
| Oxyfluorfen | 12,98bA | 18,86aA | 18,11bA | 16,65b |
| CV (%) | 24,65 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os herbicidas que afetaram a matéria seca caulinar e foliar de plantas inoculadas com FMAs foram metsulfuron-methyl, metribuzin e oxyfluorfen, mostrando efeito apenas em plantas inoculadas com *R. clarus* (Tabelas 8 e 9). Ronchi e Silva (2003) também constataram que metribuzin e oxyfluorfen causaram menor acúmulo da biomassa da parte aérea de plantas jovens de café, destaca-se ainda, que o metribuzin provocou quase a morte das plantas pulverizadas e o oxyfluorfen danos nas partes atingidas da planta, surgindo posteriormente folhas sem os sintomas.

A matéria seca radicular mostrou diferenças dos mesmos herbicidas na média das plantas de cada produto e em plantas inoculadas com *R. clarus*. Assim como ocorreu para as plantas inoculadas com esse FMA, os herbicidas chlorimuron-ethyl, metribuzin, fomesafen, flumioxazin e oxyfluorfen também proporcionaram menor incremento em matéria seca do sistema radicular das médias de plantas inoculadas ou não de cada herbicida. Observou-se também que os herbicidas não causaram efeito em plantas inoculadas com *C. etunicatum* e não inoculadas (Tabela 10). Portanto, chlorimuron-ethyl, metribuzin, fomesafen, flumioxazin e oxyfluorfen resultaram em redução do crescimento radicular ou afetaram os possíveis benefícios no sistema radicular da associação das plantas com *R. clarus* (Tabela 10). A micorriza arbuscular pode promover alterações morfológicas no sistema radicular, assim o alterando fisiologicamente e modificando a longevidade dessas raízes (Saggin Júnior e Silva, 2005). Dessa forma, os herbicidas

chlorimuron-ethyl, metribuzin, fomesafen, flumioxazin e oxyfluorfen ao intervir na fisiologia da planta, pode impedir as modificações morfofisiológicas no sistema radicular que trariam benefícios.

Tabela 10. Matéria seca radicular (g) de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, aos 56 dias após aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|------------------|--------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 8,31aA | 9,59aA | 12,56aA | 10,15a |
| Chlorimuron-ethyl | 9,37aA | 10,07aA | 8,90bA | 9,45b |
| Metsulfuron-methyl | 10,58aA | 10,13aA | 13,32aA | 11,34a |
| Metribuzin | 5,23aA | 7,25aA | 7,49bA | 6,66b |
| Fomesafen | 9,37aA | 7,74aA | 8,57bA | 8,56b |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 12,59aA | 8,99aA | 11,89aA | 11,15a |
| Flumioxazin | 8,46aA | 7,92aA | 10,47bA | 8,65b |
| Oxyfluorfen | 7,06aA | 8,34aA | 10,31bA | 8,57b |
| CV (%) | 29,22 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Quanto à matéria seca total das plantas, observou-se que o herbicida metribuzin foi o que mais afetou essa variável, apresentando também efeito negativo dos herbicidas metsulfuron-methyl e oxyfluorfen na média dos tratamentos de cada herbicida. Herbicidas que afetaram plantas não inoculadas foram os mesmo que causaram danos às plantas inoculadas com *R. clarus* (Tabela 11). Diante disso, destaca-se que a associação com *C. etunicatum* resultou em maior tolerância das plantas aos herbicidas. Os benefícios ao cafeeiro da associação com *C. etunicatum* são conhecidos, promovendo incremento de produtividade e maior resistência a estresses ambientais (Siqueira et al., 1998). Todavia, não há relatos sobre o aumento da capacidade de suportar produtos que poderiam causar intoxicação.

Tabela 11. Matéria seca total (g) de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, aos 56 dias após aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|------------|----------------------------------|----------------------|------------------|-------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |

| | | | | |
|--|---------|---------|---------|--------|
| Testemunha | 41,10aA | 47,46aA | 51,57aA | 46,71a |
| Chlorimuron-ethyl | 45,92aA | 41,76aA | 44,85aA | 44,17a |
| Metsulfuron-methyl | 34,90bA | 41,62aA | 37,53bA | 38,01b |
| Metribuzin | 22,60bA | 30,04aA | 32,27bA | 28,30c |
| Fomesafen | 47,08aA | 44,55aA | 46,70aA | 46,11a |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 46,75aA | 46,61aA | 48,84aA | 47,40a |
| Flumioxazin | 41,22aA | 39,53aA | 49,39aA | 43,38a |
| Oxyfluorfen | 26,97bA | 39,09aA | 40,26bA | 35,44b |
| CV (%) | 21,63 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A taxa de transporte de elétrons não foi afetada em plantas jovens de café colonizadas com *C. etunicatum* após 15 dias a aplicação de herbicidas. Já as plantas não inoculadas ou inoculadas com *R. clarus* apresentaram redução da taxa quando submetidas à aplicação do herbicida metribuzin. O mesmo fato foi constatado nas médias de cada herbicida, com o menor valor para a média do metribuzin (Tabela 12).

Tabela 12. Taxa de transporte de elétrons no fotossistema 2 ($\mu\text{mols elétrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, aos 15 dias após aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|--|---|-----------------------------|-------------------------|--------------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 28,75aA | 30,00aA | 28,00aA | 28,92a |
| Chlorimuron-ethyl | 33,75aA | 34,75aA | 26,75aA | 31,75a |
| Metsulfuron-methyl | 28,00aA | 26,60aA | 28,25aA | 27,54a |
| Metribuzin | 11,00bB | 23,50aA | 19,00bAB | 17,83b |
| Fomesafen | 30,75aA | 32,75aA | 30,00aA | 31,17a |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 33,00aA | 31,50aA | 28,74aA | 31,08a |
| Flumioxazin | 28,00aA | 30,00aA | 30,25aA | 29,42a |
| Oxyfluorfen | 30,00aA | 31,50aA | 34,25aA | 31,92a |
| CV (%) | 20,35 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Após 45 dias da pulverização dos herbicidas constatou-se que plantas submetidas à aplicação do herbicida metribuzin mostraram taxa de transporte de elétrons no fotossistema 2 (PSII) inferior aos demais tratamentos, quando se comparou as médias das plantas

submetidas a cada herbicida (Tabela 13). Contudo, a análise de variância não evidenciou interação significativa dos fatores, ou seja, não houve diferença entre plantas não inoculadas ou inoculadas com cada um dos FMAs independentemente do herbicida aplicado. Culturas tolerantes ao grupo de produtos que agem bloqueando o fluxo de elétrons no PSII podem apresentar redução na taxa de transporte de elétrons (ETR), mas se recuperam horas após a aplicação do produto, já plantas susceptíveis apresentam inibição completa da ETR poucas horas após o tratamento (Dayan et al., 2009). Assim, plantas de café são muito pouco tolerantes ao herbicida metribuzin (Tabelas 12 e 13).

Tabela 13. Taxa de transporte de elétrons no fotossistema 2 ($\mu\text{mols elétrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, aos 45 dias após aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|--|----------------------------------|----------------------|------------------|--------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 16,30aA | 15,55aA | 14,60aA | 15,48a |
| Chlorimuron-ethyl | 18,88aA | 18,00aA | 16,20aA | 17,69a |
| Metsulfuron-methyl | 18,28aA | 14,54aA | 15,33aA | 15,93a |
| Metribuzin | 12,53aA | 11,48aA | 12,30aA | 12,10b |
| Fomesafen | 13,50aA | 15,10aA | 18,30aA | 15,63a |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 14,00aA | 18,40aA | 18,38aA | 16,93a |
| Flumioxazin | 16,60aA | 17,53aA | 16,68aA | 16,93a |
| Oxyfluorfen | 17,68aA | 16,88aA | 14,80aA | 16,45a |
| CV (%) | 24,60 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O acúmulo de fósforo nos tecidos foliares das plantas não foi alterado pelos herbicidas aplicados, independentemente da inoculação e do FMA utilizado. Entretanto, quando se submeteu plantas não inoculadas à aplicação de chlorimuron-ethyl observou-se acúmulo de fósforo foliar. A contribuição dos FMAs na absorção de nutrientes, principalmente de fósforo, pode ser considerado o maior benefício da micorriza arbuscular para as plantas (Saggin Júnior e Silva, 2005).

Somente o herbicida metribuzin e oxyfluorfen, em plantas não inoculadas, resultaram no menor conteúdo de fósforo no caule das plantas de café. Também se observou menor acúmulo de fósforo no caule de plantas tratadas com metsulfuron-methyl nas plantas inoculadas em relação as sem inoculação.

No sistema radicular das plantas da café, o acúmulo de fósforo foi reduzido nas plantas que receberam. Além desses herbicidas, flumioxazin reduziu o conteúdo de fósforo presente nas raízes do cafeeiro não inoculado. Em plantas inoculadas com *R. clarus* os herbicidas chlorimuron-ethyl, metribuzin, fomesafen e oxyfluorfen reduziram o conteúdo de fósforo radicular, já quando inoculadas com *C. etunicatum* os herbicidas testados não afetaram o fósforo no sistema radicular (Tabela 14).

FMA's colonizam o córtex das raízes intra e intercelularmente, onde formam estruturas que fazem a troca de nutrientes com a planta, chamadas de arbúsculos. Além de colonizar as raízes, os FMA's produzem uma extensa rede de micélio no solo que contribui para maior absorção de nutrientes minerais para as plantas (Smith e Read, 2008). Todavia, os herbicidas que prejudicam o acúmulo de fósforo nas partes da planta podem ter efeito sobre o fungo, tanto no córtex radicular nas estruturas de troca de nutrientes quanto no solo onde se tem a presença de hifas. Desta forma, o emprego dos herbicidas chlorimuron-ethyl, metribuzin, fomesafen e oxyfluorfen prejudicam a ocorrência dos benefícios da micorriza arbuscular.

Tabela 14. Conteúdo de fósforo (mg) de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, aos 56 dias após aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Conteúdo de fósforo foliar | | | |
|--|------------------------------|----------------------|------------------|--------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | Média |
| Testemunha | 36,25aA | 25,50aA | 31,25aA | 31,00a |
| Chlorimuron-ethyl | 44,75aA | 26,75aB | 25,75aB | 32,42a |
| Metsulfuron-methyl | 30,50aA | 31,75aA | 26,25aA | 29,50a |
| Metribuzin | 23,75aA | 19,75aA | 33,75aA | 25,75a |
| Fomesafen | 38,75aA | 28,75aA | 31,00aA | 32,83a |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butyl | 33,50aA | 29,25aA | 21,75aA | 28,17a |
| Flumioxazin | 34,50aA | 24,00aA | 33,50aA | 30,67a |
| Oxyfluorfen | 29,00aA | 29,75aA | 34,50aA | 31,08a |
| CV (%) | 35,00 | | | |
| Herbicidas | Conteúdo de fósforo caulinar | | | |
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | Média |
| Testemunha | 13,50aA | 13,50aA | 10,25aA | 12,42a |
| Chlorimuron-ethyl | 17,00aA | 14,00aA | 9,75aA | 13,58a |
| Metsulfuron-methyl | 20,00aA | 12,00aAB | 10,25aB | 14,08a |
| Metribuzin | 5,50bA | 7,00aA | 8,50aA | 7,00b |
| Fomesafen | 13,25aA | 15,25aA | 10,75aA | 13,08a |
| Fomesafen + | 17,50aA | 10,50aA | 17,25aA | 15,08a |

| Fluazifop-p-butil | | | | |
|--------------------------------------|--------------------------------------|---------|---------|--------|
| Flumioxazin | 14,50aA | 9,50aA | 13,75aA | 12,58a |
| Oxyfluorfen | 10,75bA | 10,25aA | 13,25aA | 11,42a |
| CV (%) | 38,59 | | | |
| Herbicidas | Conteúdo de fósforo radicular | | | |
| Testemunha | 10,00aA | 7,75aA | 12,75aA | 10,17a |
| Chlorimuron-ethyl | 10,00aA | 11,75aA | 6,75bA | 9,50a |
| Metsulfuron-methyl | 10,75aA | 9,00aA | 13,50aA | 11,08a |
| Metribuzin | 4,25bA | 6,25aA | 6,25bA | 5,58b |
| Fomesafen | 8,25bA | 7,00aA | 7,75bA | 7,67b |
| Fomesafen + Fluazifop-p-butil | 13,75aA | 10,00aA | 11,50aA | 11,75a |
| Flumioxazin | 8,50bA | 9,00aA | 11,50aA | 9,67a |
| Oxyfluorfen | 6,75bA | 8,25aA | 7,75bA | 7,58b |
| CV (%) | 36,11 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

A colonização micorrízica foi afetada negativamente pelos herbicidas chlorimuron-ethyl, metsulfuron-methyl, metribuzin, fomesafen e oxyfluorfen, tanto na média das plantas submetidas a cada herbicida como nas plantas inoculadas com *R. clarus*, que também apresentaram redução com aplicação de fluazifop-p-butil + fomesafen. Todos os produtos testados não afetaram a colonização de raízes das plantas pelo FMA *C. etunicatum* (Tabela 15). As plantas não reduziram a percentagem de colonização na ausência da inoculação dos fungos *C. etunicatum* e *R. clarus*. Porém, quando submetidas ao herbicida metsulfuron-methyl, mostraram menor colonização micorrízica quando não se aplicou os inoculantes. Portanto, a associação do cafeeiro com *C. etunicatum* foi tolerante aos herbicidas pulverizados.

Tabela 15. Colonização micorrízica (%) das raízes de plantas jovens de café inoculadas com *Claroideoglomus etunicatum*, *Rhizophagus clarus* ou não inoculadas, aos 56 dias após aplicação de herbicidas

| Herbicidas | Fungos Micorrízicos Arbusculares | | | Média |
|---------------------------|---|-----------------------------|-------------------------|--------------|
| | Não inoculado | <i>C. etunicatum</i> | <i>R. clarus</i> | |
| Testemunha | 29,00aA | 41,00aA | 41,00aA | 37,00a |
| Chlorimuron-ethyl | 28,33aA | 26,33aA | 29,67bA | 28,11b |
| Metsulfuron-methyl | 16,67aB | 37,33aA | 23,33bAB | 25,78b |
| Metribuzin | 30,00aA | 29,67aA | 27,33bA | 29,00b |
| Fomesafen | 32,33aA | 34,33aA | 25,00bA | 30,56b |

| | | | | |
|--|---------|---------|---------|--------|
| Fomesafen + Fluazifop-p-butil | 38,67aA | 40,33aA | 29,33bA | 36,11a |
| Flumioxazin | 26,00aA | 33,33aA | 40,33aA | 33,22a |
| Oxyfluorfen | 26,00aA | 25,67aA | 33,00bA | 28,22b |
| CV (%) | 23,38 | | | |

Médias seguidas na coluna pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo critério de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade, médias seguidas na linha pela mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O herbicida flumioxazin, mesmo reduzindo a altura de plantas, área foliar e massa de matéria seca radicular das plantas inoculadas, possui maior potencial para uso no manejo de plantas daninhas em pós-emergência, na fase inicial de crescimento do cafeeiro inoculado com FMAs, pois resultou apenas em efeitos muito leves às plantas de café. Fomesafen e a sua mistura com fluazifop-p-butil apresentaram-se intermediários quanto ao potencial de utilização. Esses herbicidas resultaram em danos moderados nas plantas inoculadas.

No geral, plantas inoculadas com *C. etunicatum* foram pouco sensíveis aos herbicidas, pois essas plantas demonstram leves efeitos com aplicação dos herbicidas, além da associação das plantas de café com esse FMA apresentar-se tolerante a aplicação de herbicidas testados. Na condição de fase inicial de crescimento do cafeeiro e apenas uma aplicação, destaca-se o flumioxazin como herbicida que causa menores danos às plantas e metsulfuron-methyl, metribuzin e oxyfluorfen como menos seletivos para plantas jovens de café micorrizadas.

LITERATURA CITADA

ANTUNES, W. C.; POMPELLI, M. F.; CARRETERO, D. M.; DAMATTA, F. M. Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*). **Annals of Applied Biology**, v. 153, n. 1, p. 33-40, 2008.

ARALDI, R.; VELINI, E. D.; GIROTTO, M.; CARBONARI, C. A.; JASPER, S. P.; TRINDADE, M. L. B. Efeitos na taxa de transporte de elétrons de plantas daninhas após aplicação de amicarbazone. **Planta Daninha**, v. 29, n. 3, p. 647-653, 2011.

BRAGA, J. M.; DEFELLIPO, B. V. Determinação espectrofotométrica de P em extratos de solo e material vegetal. **Revista Ceres**, v. 21, n. 113, p. 73-85, 1974.

DAYAN, F. E.; TRINDADE, M. L. B.; VELINI, E. D. Amicarbazone, a new photosystem II inhibitor. **Weed Science**, v. 57, n. 6, p. 579-583, 2009.

FRANS, R. E. Measuring plant response. In: WILKINSON, R. E. (Ed.) **Research methods in weed science** [S.l.]: Southern Weed Science Society, 1972. p. 28-41.

GIANINAZZI, S.; GOLLOTTE, A.; BINET, M. N.; VAN TUINEN, D.; REDECKER, D.; WIPF, D. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. **Mycorrhiza**, v. 20, p. 519–530, 2010.

GUIMARÃES, P. T. G. et al. Cafeeiro. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (Eds.). **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 289-302.

KOSCHNICK, T. J.; NETHERLAND, M. D.; HALLER, W. T. Effects of three ALS-inhibitors on five emergent native plant species in Florida. **Journal of Aquatic Plant Management**, v. 45, p. 47-51, 2007.

LENDENMANN, M.; THONAR, C.; BARNARD, R. L.; SALMON, Y.; WERNER, R. A.; FROSSARD, E.; JANSA, J. Symbiont identity matters: carbon and phosphorus fluxes between *Medicago truncatula* and different arbuscular mycorrhizal fungi. **Mycorrhiza**, v. 21, p. 689–702, 2011.

OLIVEIRA, A. R.; FREITAS, S. P.; VIEIRA, H. D. Controle de *Commelina benghalensis*, *C. erecta* e *Tripogandra diuretica* na cultura do café. **Planta Daninha**, v. 27, n. 4, p. 823-830, 2009.

RONCHI, G. P.; SILVA, A. A. Tolerância de mudas de café a herbicidas aplicados em pós-emergência. **Planta Daninha**, v. 21, n. 3, p. 421-426, 2003.

SAGGIN JUNIOR, O. J. ; SILVA, E. M. R. Micorriza Arbuscular - Papel, funcionamento e aplicação da simbiose. In: AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. (Org.). **Processos Biológicos no Sistema Solo-Planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável**. 1ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005, v. 1, p. 101-149.

SAGGIN JÚNIOR, O. J.; SIQUEIRA, J. O. Micorrizas Arbusculares em cafeeiro. In: SIQUEIRA, J. O. **Avanços em Fundamentos e Aplicação de Micorrizas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/DCS e DCF, 1996, p. 203-254.

SILVA, A. A.; RONCHI, C. P. Manejo e controle de plantas daninhas em café. In: VARGAS, L.; ROMAN, E. S. (Eds.). **Manual de manejo e controle de plantas daninhas**. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2004, p. 337-396.

SIQUEIRA, J. O.; SAGGIN-JÚNIOR, O. J.; FLORES-AYLAS, W. W.; GUIMARÃES, P. T. G. Arbuscular mycorrhiza inoculation and superfosphate application influence plant development and yield of coffee in Brazil. **Mycorrhiza**, v. 7, p. 293-300, 1998.

SMITH S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**, 3rd ed. Academic Press. London. 803 p, 2008.

STÜRMER, S. L.; SIQUEIRA, J. O. Diversidade de fungos micorrízicos em ecossistemas brasileiros. In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSARD, L. **Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros**. Lavras, Ed. UFLA, 2008, p. 537-584.

ARTIGO CIENTÍFICO III

GLYPHOSATE AFETA A ASSOCIAÇÃO MICORRÍZICA ARBUSCULAR EM CAFEIEIRO

RESUMO: A associação micorrízica favorece o estabelecimento, a sobrevivência no campo e a nutrição da planta hospedeira, por consequência, maior crescimento e produtividade. Todavia, o manejo de plantas daninhas no cafeeiro pode interferir nessa associação, onde muitas vezes se faz o emprego do herbicida glyphosate. Avaliou-se neste trabalho efeito do herbicida glyphosate no crescimento e estado nutricional de plantas de café arábica (Catuaí Vermelho IAC 99) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (FMAs). Para isso, utilizou-se esquema fatorial 2x5, sendo mudas inoculadas ou não inoculadas com FMAs, e cinco subdoses de glyphosate (0; 57,6; 115,2; 230,4 e 460,8 g ha⁻¹ de glyphosate), em delineamento de blocos casualizados com cinco repetições. A inoculação foi efetuada na fase de produção de muda com uma mistura de FMAs, *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*, e, posteriormente ao transplântio, quando as plantas estavam com sete pares de folhas, aplicaram-se as subdoses de glyphosate. O herbicida causou fitointoxicação de até 60% em plantas não inoculadas e 45% em plantas inoculadas, com aplicação da maior dose de 460,8 g e. a. ha⁻¹. Verificou-se efeito negativo no crescimento das plantas de café e do teor de fósforo das plantas de café com o aumento das doses de glyphosate, independentemente da inoculação. O herbicida reduziu o crescimento de plantas colonizadas pelos FMAs testados, bem como fungos nativos, afetando negativamente a colonização micorrízica da plantas tratadas com o glyphosate.

Palavras chaves: *Coffea arabica*, deriva, micorriza, *Rhizophagus clarus*, *Gigaspora margarita*.

Abstract: The mycorrhizal association promotes better survival and nutrition of colonized seedling on field, and consequently, increasing of productivity. However, the weed management can interfere on this association, when often use the glyphosate herbicide. In this work evaluated the effects of glyphosate application on the growth and nutrition of arabica coffee plants (Catuaí Vermelho – IAC 99) colonized with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The experiment was realized in 2x5 factorial scheme, being plant colonized and non-colonized, and five glyphosate subdoses (0.0, 57.6, 115.2, 230.4, and 460.8 g ha⁻¹

of glyphosate), in randomized blocks with five replication. The inoculation was carried on during the greenhouse phase of seedlings production with a mixture of *Rhizophagus clarus* and *Gigaspora margarita*, and after to transplanting, when the plants had seven pairs of leaves, applied the glyphosate subdoses. The product caused intoxication up to 60% on non-inoculated and 45% on inoculated plants, when applied the bigger dose of 460.8 g a. e. ha⁻¹. A negative effect was verified on growth and phosphorus content of coffee plants, this effect increase dependently of glyphosate subdose but independently of inoculation. The herbicide reduces the growth and nutrition of colonized plants by species of AMF tested and indigenous fungi, affecting negatively the root colonization of plants treated with glyphosate.

Keywords: *Coffea arabica*, mycorrhizal fungi, Glyphosate, Drift

INTRODUÇÃO

O café é de grande importância para a economia brasileira, principalmente pelas divisas internacionais que proporciona, além da possibilidade de emprego para grande número de trabalhadores. Apesar do cafeeiro já conquistar significativo patamar no agronegócio brasileiro, produtores e pesquisadores buscam desenvolver a cultura, procurando maior sustentabilidade, qualidade e produtividade, para o sucesso da sua lavoura (Miranda et al., 2006). Contudo, esse maior sucesso da lavoura pode ser favorecido com a prática de inoculação de micro-organismos, durante a fase de produção de mudas, que possam promover maior crescimento e produtividade para essas plantas.

Dentre esses microorganismos, destacam-se os fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) que são caracterizados por aumentar a absorção de nutrientes, pelo aumento efetivo da exploração do volume do solo e transferir grande parte desses nutrientes para a planta hospedeira, beneficiando seu crescimento, desenvolvimento e, conseqüentemente, seu vigor e produtividade (Moreira e Siqueira, 2006). A associação ainda mantém as raízes ativas por mais tempo, protege a planta contra patógenos e outros estresses no campo, favorecendo o estabelecimento e sobrevivência da planta no campo (Maia et al., 2006).

Como a micorriza é um sistema biológico compartimentalizado (solo, planta e fungo), sofre influência do ambiente e de fatores edáficos de cada componente que interferem de modo direto ou indireto a formação e o funcionamento da associação (Smith e Read, 2008). Entre esses fatores devem ser considerados o uso de agrotóxicos, como herbicidas, que causam impacto direto sobre a cultura (Vieira et al., 2007) e que são

escassos relatos da sua influência sobre os micro-organismos do solo, incluindo os FMAs e sobre a associação micorrízica.

O manejo de plantas daninhas representa custo e, se não utilizado de forma eficiente, pode resultar em interferência negativa das mesmas sobre o crescimento e produtividade do cafeeiro, principalmente durante a implantação e formação das lavouras (Fialho et al., 2011; Ronchi et al., 2003). A alternativa a esse problema é o controle químico, destacando-se o glyphosate como herbicida mais utilizado na cafeicultura, devido ao seu controle eficiente e o baixo custo do produto.

O glyphosate é um herbicida de ação total e durante sua pulverização existe a possibilidade da ocorrência de “deriva acidental”. De acordo com Ronchi e Silva (2004), são constatados vários casos desse fenômeno, identificado como a dispersão de gotas para plantas não alvo, podendo causar intoxicação da cultura. A intoxicação de plantas de café pode variar de acordo com algumas características como: cultivar ou porte das plantas (França et al., 2010a; 2013), umidade superficial e idade da folha, estágio de crescimento e outros, que irão influenciar diretamente a absorção e a metabolização do produto (Salgado et al., 2011). Além disso, plantas mais vigorosas e nutridas adequadamente podem apresentar maior capacidade de suportar os efeitos do herbicida.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da deriva de glyphosate sobre o crescimento e estado nutricional de plantas de café arábica inoculadas com FMAs.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação utilizando a cultivar Catuaí Vermelho IAC 99 de *Coffea arabica*. Para produção das mudas utilizou-se sementes previamente desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio (1%) e lavadas com água destiladas, e foram semeadas em areia autoclavada. Na fase de “palito de fósforo” foram repicadas para sacolas de polietileno contendo o substrato (constituído de sete partes de subsolo peneirado e três partes de esterco de curral curtido), adubado de acordo com Guimarães et al. (1999). No ato da repicagem, metade das mudas foram inoculadas com espécies de fungos micorrízicos arbusculares (FMAs).

Adotou-se o esquema fatorial 2x5, sendo o primeiro fator referente à inoculação ou não com os FMAs; enquanto o segundo fator referente as cinco subdoses de glyphosate em simulação de deriva. Os tratamentos foram dispostos em blocos casualizados com quatro repetições.

A inoculação foi efetuada no ato do transplante, quando metade das mudas foram inoculadas com uma mistura das espécies de FMAs, *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*. O inoculante foi composto pela mistura de espécies de FMAs *Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita* (1:1), que apresentava aproximadamente 100 esporos por 10 g do inoculante, que foi a quantidade aplicada em cada sacola.

As subdoses testadas foram: 0,0; 57,6; 115,2; 230,4 e 460,8 g ha⁻¹ equivalente ácido de glyphosate (N-fosfometil glicina) respectivamente, correspondentes a 0, 4, 8, 16 e 32% da dose de 1.440 g ha⁻¹ da formulação de sal de isopropilamina do produto comercial Roundup Original[®]. A unidade experimental constituiu de uma planta de café por vaso.

Quando se apresentaram com quatro a cinco pares de folhas definitivas, as mudas foram transplantadas para vasos com volume de 20 dm³ preenchidos com substrato, formulado com 300 dm³ de amostra de subsolo peneirada e 700 dm³ de esterco de curral curtido, adubado com 2,5 kg de superfosfato simples e 0,5 kg de cloreto de potássio. A análise química do solo apresentou o seguinte resultado: pH (água) de 5,3; teor de matéria orgânica de 1,6 dag kg⁻¹; P, K e Ca de 0,2, 8 e 0,5 mg dm⁻³, respectivamente; e Mg, Al, H+Al e CTC_{efetiva} de 0,4, 0,3, 6,5 e 1,2 cmol_c dm⁻³, respectivamente. Após a formulação do substrato determinou-se o potencial de inóculo do solo, que apresentou 20 esporos por cada 10 g de solo.

A aplicação do glyphosate foi realizada quando as plantas estavam no estágio de sete pares de folhas desenvolvidas, utilizando um pulverizador costal pressurizado a CO₂ mantido a pressão constante de 250 kPa, equipado com uma barra com duas pontas tipo leque (TT 110 02), espaçadas a 50 cm entre si e aplicando o equivalente a 200 L ha⁻¹ de calda.

Aos zero e 45 dias após a aplicação do glyphosate (DAA), mensurou-se a altura e a área foliar. Aos 45 dias as plantas foram cortadas rente ao solo e separado o caule, as folhas e as raízes, sendo todas as partes lavadas.

Para avaliar a colonização das raízes do cafeeiro por FMAs o sistema radicular ainda fresco foi lavado e, posteriormente, amostrado, retirando-se de cada planta fragmentos de, aproximadamente, 1 cm de comprimento das raízes finas, de forma que represente todo o sistema radicular. As raízes amostradas foram clarificadas com KOH (10%) e coradas com azul de tripano em lactoglicerol 0,05%. Para contagem da colonização micorrízica foi utilizada a técnica da placa quadriculada, contando cada interceptação de raiz com as linhas da placa, dispostas horizontal e verticalmente à 1 cm de

cada, como colonizada ou não e calculado a relação em percentagem das interceptações colonizadas.

Logo após, a área foliar foi escaneada, sendo posteriormente mensurada pelo programa de determinação de área foliar DDA (Determinador Digital de Área).

Em seguida todo o material foi acondicionado individualmente em sacos de papel e levado à estufa de circulação forçada de ar (60°C) até a obtenção de massa constante para determinação da matéria seca das partes das plantas. Foi realizado ainda análise de fósforo em laboratório pelo método da vitamina C modificado (Braga e Defelipo, 1974), após o material ser moído e submetido à solubilização nitroperclórica.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o Teste F ($p \leq 0,05$). Nos casos em que a interação foi significativa realizou-se o desdobramento empregando análise de regressão para as épocas de avaliação. A escolha dos modelos foi realizada baseado na sua significância, no fenômeno biológico e no coeficiente de determinação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as variáveis analisadas apresentaram efeito da interação entre os fatores inoculação e doses de glyphosate, sendo desdobrada e efetuada a análise de regressão das doses de glyphosate aplicadas em plantas inoculadas e não inoculadas.

As folhas mais novas das plantas tratadas com glyphosate apresentaram clorose e estreitamento do limbo foliar, sendo mais pronunciados com aumento das subdoses, o que foi observado independentemente de plantas de café inoculadas ou não. A clorose e o estreitamento das folhas jovens, expandidas após a aplicação do produto, também foram observadas em diferentes cultivares de cafeeiro após serem submetidas a subdoses de glyphosate (França et al., 2010a). O sintoma de clorose causada pelo herbicida pode ser devido ao glyphosate impedir de modo indireto a síntese de clorofila, como constatado em plantas de soja por Ding et al. (2011). Já o estreitamento do limbo foliar pode ser resultado da inibição da produção dos aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina e triptofano, que são essenciais à síntese protéica e divisão celular, causando o crescimento foliar diferenciado (Haslam, 1993). A intoxicação causada pelo glyphosate apresentou comportamento linear com o aumento da dose do produto aplicada, aumentando em 0,1047 e 0,1356% de intoxicação com incremento de cada grama do herbicida aplicado, nas plantas inoculadas e não inoculadas com as espécies de FMAs *R. clarus* e *G. margarita*

(Figura 1).

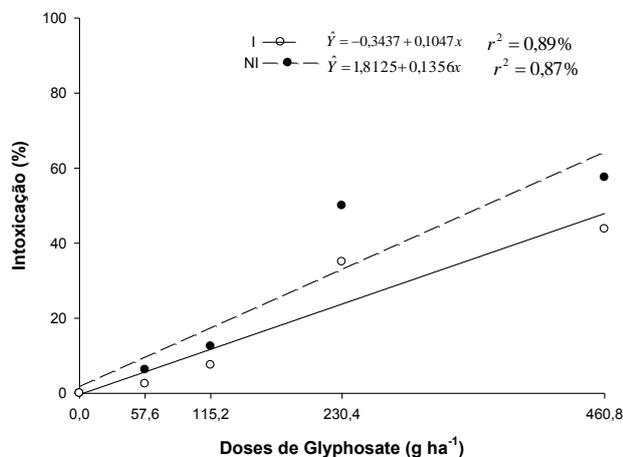


Figura 1 – Percentagem de intoxicação de plantas de café (Catuaí Vermelho IAC 99) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*) (I), e não inoculadas (NI), aos 45 dias após a aplicação de doses do glyphosate. (dados expressos em % em relação à testemunha)

Verificou-se redução no incremento em altura nas plantas de café em função do aumento de doses do glyphosate. Esse comportamento seguiu modelo linear decrescente com o aumento da dose do herbicida, obtendo diminuição de 0,0203 e 0,0062 grama para cada grama de herbicida aplicado, respectivamente em plantas inoculadas e não inoculadas com FMAs (Figura 2A). França et al. (2010a; 2013) constataram que a deriva de glyphosate influenciou negativamente o incremento de altura com o aumento das doses para diferentes cultivares de *Coffea arabica* aos 45 dias após a aplicação do herbicida. O glyphosate é um herbicida sistêmico e, após ser absorvido, transloca-se pela planta seguindo a rota dos produtos da fotossíntese, indo das folhas fotossinteticamente ativas em direção às partes das plantas que utilizam estes produtos, estabelecendo-se trajetória da fonte para o dreno (Caseley e Coupland, 1985). Assim o herbicida atinge os pontos de crescimento da planta, também presentes no ápice caulinar, ocasionando a paralisação do crescimento desta região. Em trabalho de Salgado et. al. (2011), foi constatado que plantas de eucalipto (*Eucalyptus grandis* x *E. urophylla*) obtiveram menor incremento de altura com aplicação de doses superiores a 100 g de e. a. de glyphosate por hectare.

Houve menor incremento na área foliar com o aumento das doses de glyphosate, seguindo diminuição linear nos valores das plantas inoculadas e não inoculadas. As plantas inoculadas apresentaram decréscimo de 0,5398 cm² por grama de glyphosate, enquanto as

não inoculadas redução de 1,3246 cm² (Figura 2B). Do mesmo modo, França et al. (2010a) observaram tendência linear decrescente para as cultivares Catucaí e Oeiras, com redução de 4,004 e 4,355 cm², respectivamente para cada g do herbicida aplicado. Salgado et al. (2011) evidenciaram que a dose de 121,33 g ha⁻¹ e. a. de glyphosate foi suficiente para reduzir a área foliar de plantas de eucalipto em 50%.

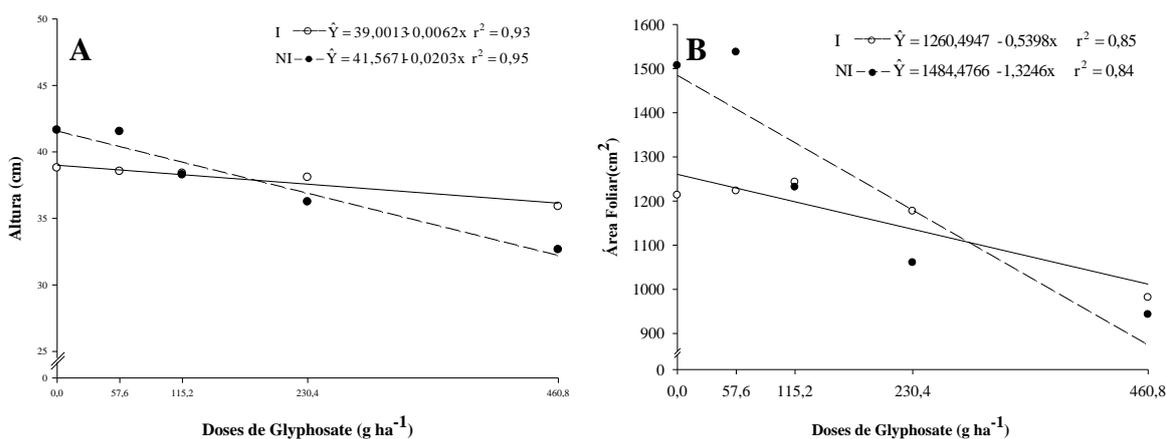


Figura 2 – Altura (A) e área foliar (B) de plantas de café (Catuaí Vermelho IAC 99) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*) (I), e não inoculadas (NI), aos 45 dias após a aplicação de doses do glyphosate.

A matéria seca radicular sofreu efeito do glyphosate, sendo que o aumento das doses acarretaram em menores valores dessa variável (Figura 3A). Com aplicação da maior dose de glyphosate a matéria seca radicular apresentou reduções de 18 e 50%, em plantas inoculadas e não inoculadas, respectivamente. Devido à movimentação interna na planta do glyphosate seguir a mesma direção dos fotoassimilados em direção aos pontos de crescimento, onde esses produtos serão utilizados, o glyphosate pode atingir os ápices radiculares. Na fase inicial de crescimento do cafeeiro o sistema radicular está em intensa expansão e com alta atividade de divisão celular, assim demandando dos aminoácidos aromáticos que são inibidos pelo glyphosate. Tuffi Santos et al. (2005) observaram presença do glyphosate no sistema radicular ao apresentar o efeito de coloração amarronzada nas raízes de plantas de braquiária 15 dias após aplicação de glyphosate, sugerindo que os tecidos radiculares estavam necrosados.

A matéria seca caulinar apresentou redução com o aumento da dose do herbicida, seguindo tendência linear negativa. Na maior dose do herbicida a matéria seca caulinar

mostrou reduções no acúmulo de 20 e 49%, respectivamente em plantas inoculadas e não inoculadas. Esses valores corroboram com os observados por França et al. (2010a), cuja redução foi de 23% na matéria seca do caule de plantas de café submetida à 460,8 g e. a. de glyphosate por ha.

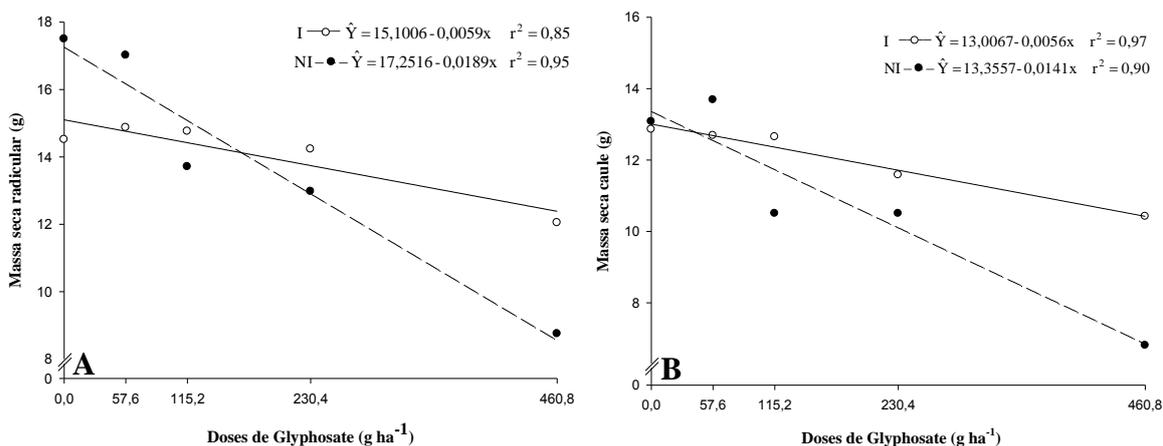


Figura 3 - Matéria seca radicular (A) e do caule (B) de plantas de café (Catuaí Vermelho IAC 99) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*) (I), e não inoculadas (NI), aos 45 dias após a aplicação de doses do glyphosate simulando deriva.

As plantas inoculadas mostraram comportamento linear decrescente da matéria seca foliar, diminuindo 2,7% do seu valor para cada 50 g do e. a. de glyphosate aplicado, enquanto as plantas não inoculadas obtiveram tendência polinomial quadrática positiva (Figura 4A). França et al. (2013) observaram o mesmo comportamento da matéria seca foliar, seguindo tendência polinomial positiva em função do aumento da dose de glyphosate na cultivar Acaiá. Este herbicida pode interferir na assimilação de carbono pela planta, o que contribui na redução no acúmulo de matéria seca total, como apresentado pelas plantas submetidas ao produto (Figura 4B). A massa seca total mostrou menor acúmulo de matéria nas plantas inoculadas ou não pelos fungos, apresentando redução em torno de 20 e 49% de plantas inoculadas e não inoculadas, respectivamente (Figura 4B).

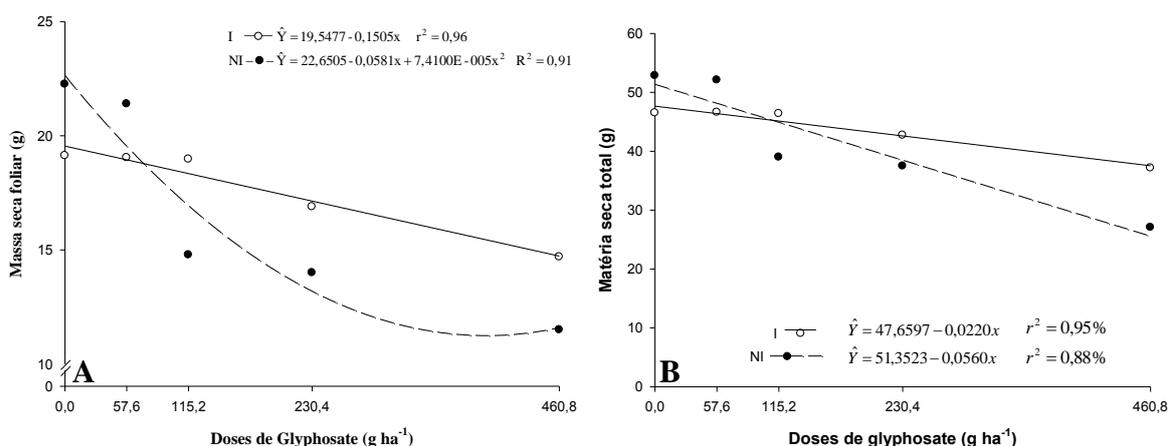


Figura 4 – Matéria seca foliar (A) e total (B) de plantas de café (Catuaí Vermelho IAC 99) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*) (I), e não inoculadas (NI), aos 45 dias após a aplicação de doses do glyphosate.

Ao analisar o teor foliar de fósforo, constatou-se que, independente inoculação, houve diminuição dos valores com o aumento das doses de glyphosate. O aumento das doses reduziu linearmente o teor do nutriente fósforo, sendo redução de 0,5 e 0,6 mg kg⁻¹ por grama de herbicida aplicado, quando as plantas foram inoculadas e não inoculadas, respectivamente (Figura 5). Sabe-se que a inoculação no momento do transplântio das plântulas na fase de “palito de fósforo” aumenta o teor de fósforo dessas mudas produzida (Andrade et al., 2010), entretanto, o glyphosate interfere na nutrição do cafeeiro, proporcionando menor teor de fósforo na planta tratada (França et al., 2010b), assim como constatado nas plantas inoculadas ou não inoculadas (Figura 4). A absorção pode ter sido afetada com o aumento das doses de glyphosate, que causou danos na estrutura da plantas, inclusive no sistema radicular, diminuindo assim sua capacidade de absorção de nutriente.

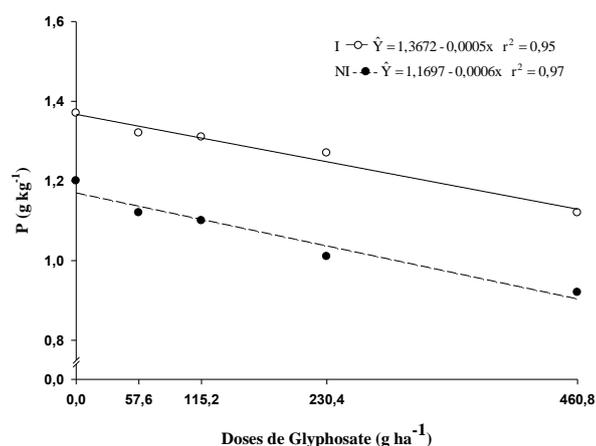


Figura 5 – Teor de fósforo de plantas de café (Catuaí Vermelho IAC 99) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*) (I), e não inoculadas (NI), em diferentes doses de glyphosate.

As plantas inoculadas com os fungos selecionados mostraram comportamento linear de redução da colonização com o aumento da dose. Para as plantas não inoculadas, com as raízes colonizadas apenas por FMAs nativos do solo utilizado, a colonização obteve comportamento quadrático, com a dose de 301,0 g de glyphosate obtiveram a menor colonização, a partir dessa dose os FMAs nativos começaram a se estabilizar e até com tendência de recuperação (Figura 6). O glyphosate pode afetar a colonização através de sua translocação na planta até o sistema radicular ou diretamente no FMA que também está presente no solo, apesar da sua baixa atividade no solo. Essa capacidade foi comprovada observando os efeitos negativos do glyphosate em esporos de FMA presentes no solo foram demonstrados, avaliando a germinação dos esporos e a colonização de plantas cultivadas em solo previamente submetido à aplicação de glyphosate Druille et al. (2013). Ressalta-se que outros métodos de controle de plantas daninhas podem obter resultados mais agressivos à população de FMA, a exemplo o revolvimento do solo (Brito et al., 2013), prática também muito utilizada antes do plantio do cafeeiro.

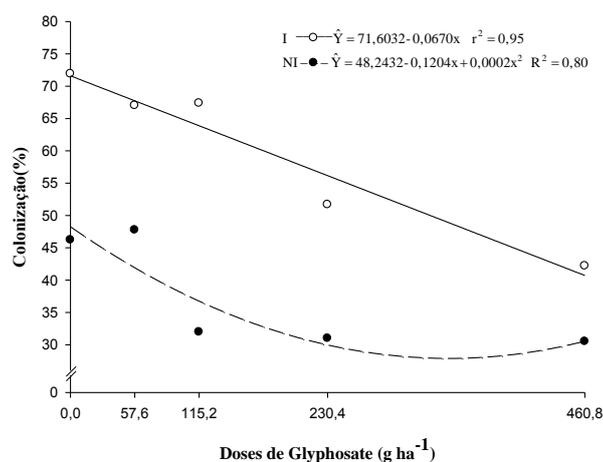


Figura 6 – Colonização de plantas de café (Catuaí Vermelho IAC 99) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares (*Rhizophagus clarus* e *Gigaspora margarita*) (I), e não inoculadas (NI), em diferentes doses de glyphosate.

De acordo com os resultados, subdoses do glyphosate influenciam negativamente plantas de café, independente da colonização pelos fungos *R. clarus* e *G. margarita* ou por FMAs nativos, cujas plantas colonizadas com *R. clarus* e *G. margarita* são menos afetadas com aumento da dose. O glyphosate influencia na interação planta e FMAs, podendo ser diretamente sobre o fungo ou através da plantas tratada. Desse modo, deve-se evitar a aplicação do glyphosate ou alertar quanto aos cuidados durante a pulverização nas lavouras de café, onde se deseja, principalmente, usufruir dos benefícios da associação micorrízica.

LITERATURA CITADA

ANDRADE, S. A. L.; SILVEIRA, A. P. D.; MAZZAFERA, P. Arbuscular mycorrhiza alters metal uptake and the physiological response of *Coffea arabica* seedlings to increasing Zn and Cu concentrations in soil. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 5381-5391, 2010.

BRAGA, J. M.; DEFELLIPO, B. V. Determinação espectrofotométrica de P em extratos de solo e material vegetal. **Revista Ceres**, v. 21, n. 113, p. 73-85, 1974.

BRITO, I.; CARVALHO, M.; GOSS, M. J. Soil and weed management for enhancing arbuscular mycorrhiza colonization of wheat. **Soil Use and Management**, v. 29, n. 4, p. 540-546, 2013.

CASELEY, J. C.; COUPLAND, D. Environmental and plant factors affecting glyphosate uptake movement and acidity. In: GROSSBARD, E.; ATKINSON, D. A. **The herbicide glyphosate**. London: Butterworths, 1985. p. 92-123.

DING, W.; REDDY, K. N.; ZABLOTOWICZ, R. M.; BELLALOU, N.; BRUNS, H. A. Physiological responses of glyphosate-resistant and glyphosate-sensitive soybean to aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate. **Chemosphere**, v. 83, n. 4, p.593-598, 2011.

DRUILLE, M.; CABELLO, M. N.; OMACINI, M.; GOLLUSCIO, R. A. Glyphosate reduces spore viability and root colonization of arbuscular mycorrhizal fungi. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 99-103, 2013.

FIALHO, C. M. T.; FRANÇA, A. C.; TIRONI, S. P.; RONCHI, C. P.; SILVA, A.A. Interferência de plantas daninhas sobre o crescimento inicial de *Coffea arabica*. **Planta Daninha**, v.29, n.1, pp. 137-147, 2011.

FRANÇA, A. C.; FREITAS, M. A. M.; FIALHO, C. M. T.; SILVA, A. A.; REIS, M. R.; GALON, L.; VICTORIA FILHO, R. Crescimento de cultivares de café arábica submetidos a doses do glyphosate. **Planta Daninha**, v.28, n.3, pp. 599-607, 2010a.

FRANCA, A. C.; FREITAS, M. A. M.; D'ANTONINO, L.; FIALHO, C. M. T.; SILVA, A. A.; REIS, M. R.; RONCHI, C. P. Teores de nutrientes em cultivares de café arábica submetidos à deriva de glyphosate. **Planta Daninha**, v.28, n.4, pp. 877-885, 2010b.

FRANCA, A. C.; FREITAS, M. A. M.; FIALHO, C. M. T.; SILVA, A. A.; REIS, M. R.; GALON, L.; VICTORIA FILHO, R. Deriva simulada do glyphosate em cultivares de café Acaia e Catucaí. **Planta Daninha**, v.31, n.2, pp. 443-451, 2013.

GUIMARÃES, P. T. G. et al. Cafeeiro. In: RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ V., V. H. (Eds.). **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais, 1999. p. 289-302.

HASLAM, E. **Shikimic acid: metabolism and metabolites**. Chichester: John Wiley, 1993. 392 p.

MAIA, L.C., SILVEIRA, N.S.S., CAVALCANTE, U.M.T. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and root pathogens. In: Handbook of microbial biofertilizers, M.K. Rai, org. **The Haworth Press Inc**, New York, p.325-352. 2006.

MIRANDA, G. R. B.; GUIMARÃES, R. J.; BOTREL, É. P.; CAMPOS, V. P.; ALMEIDA, G. R. R.; GONZALEZ, R. G. Formação de mudas de cafeeiro em substratos oriundos de diferentes métodos de desinfestação. **Bragantia**. v. 65, n. 2, pp. 303-307. 2006.

MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e Bioquímica do Solo**. 2ª ed. atual. e ampl. Lavras: Editora UFLA, 2006. 729 p.

RONCHI, C. P.; SILVA, A. A. Weed control in young coffee plantations through postemergence herbicide application onto total area. **Planta Daninha**, v. 22, n. 4, p. 607-615, 2004.

RONCHI, C. P.; TERRA, A. A.; SILVA, A. A.; FERREIRA, L. R. Acúmulo de nutrientes pelo cafeeiro sob interferência de plantas daninhas. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 219-227, 2003.

SALGADO, T. P.; ALVES, P. L. C. A.; KUVA, M. A.; TAKAHASHI, E. N.; DIAS, T. C. S.; LEMES, L. N. Sintomas da intoxicação inicial de *Eucalyptus* proporcionados por subdoses de glyphosate aplicadas no caule ou nas folhas. **Planta Daninha**, v. 29, n. 4, pp. 913-922, 2011.

SMITH S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**, 3rd ed. Academic Press. London. 803 p, 2008.

TUFFI SANTOS, L. D.; FERREIRA, F. A.; BARROS, N. F.; SIQUEIRA, C. H.; SANTOS, I. C.; MACHADO, A. F. L. Exsudação radicular do glyphosate por *Brachiaria decumbens* e seus efeitos em plantas de eucalipto e na respiração microbiana do solo. **Planta Daninha**, v. 23, n. 1, p. 143-152, 2005.

VIEIRA, R. F.; SILVA, C. M. M. S.; SILVEIRA, A. P. D. Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. **Plant Soil**, v. 300, n. 1, p. 95-103, 2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mudas de café quando colonizadas pelas espécies de fungos micorrízicos arbusculares *Clareideoglossum etunicatum* e *Rhizophagus clarus* são beneficiadas pela simbiose. A qualidade e o desenvolvimento de plantas inoculadas com essas espécies de FMAs são favorecidos, não só pelo maior crescimento, mas também pelo incremento na aquisição de fósforo, mesmo com redução de metade da dose recomendada. Somando-se à maior produtividade de plantas micorrizadas no campo comprovada na literatura e a possibilidade de multiplicação de inoculante, essa prática possui grande potencial de aplicação. Entretanto, o seu uso intensificado se dará quando a tecnologia de produção e inoculação tornar-se conhecida e disponível para os agricultores.

O herbicida flumioxazin possui maior seletividade às plantas inoculadas com FMAs, destacando-se, assim, com potencial uso no manejo de plantas daninhas, com aplicação única na fase inicial de crescimento do cafeeiro colonizado com fungos micorrízicos arbusculares. Fomesafen e a sua mistura com fluazifop-p-butil podem ser empregados em plantas inoculadas com *C. etunicatum*. De forma geral, plantas inoculadas com *C. etunicatum* são pouco sensíveis aos herbicidas, mostrando a associação com esse fungo micorrízico arbuscular tolerante a aplicação dos herbicidas testados.

O glyphosate mesmo em subdoses prejudicam plantas de café atingidas, independente da colonização micorrízica pelos fungos *R. clarus* e *Gigaspora margarita*. Entretanto, plantas colonizadas com *R. clarus* e *G. margarita* são menos afetadas com o aumento da dose desse herbicida. Assim, deve-se evitar a aplicação de glyphosate ou alertar a importância dos cuidados durante a pulverização nas lavouras jovens de café, onde se deseja, principalmente, usufruir dos benefícios da associação micorrízica.